

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS

ESCOLA NORMAL SUPERIOR

LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

THAINÁ NAJAR MATOS DE MORAES

ANÁLISE MORFOMÉTRICA DE *Osteocephalus taurinus* (ANURA: HYLIDAE)

MANAUS-AM

2022

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO AMAZONAS
ESCOLA NORMAL SUPERIOR
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

THAINÁ NAJAR MATOS DE MORAES

ANÁLISE MORFOMÉTRICA DE *Osteocephalus taurinus* (ANURA: HYLIDAE)

Orientador: Dr. Marcelo Salles Rocha

Coorientador: Dr. André de Lima Barros

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade do Estado do Amazonas - UEA/ENS
como parte dos requisitos para obtenção de título
de licenciado em Ciências Biológicas.

MANAUS-AM

2022

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Sistema Integrado de Bibliotecas da Universidade do Estado do Amazonas.

N162aa Moraes, Thainá Najar Matos de
ANÁLISE MORFOMÉTRICA DE *Osteocephalus taurinus* (ANURA: HYLIDAE) / Thainá Najar Matos de Moraes. Manaus : [s.n], 2022.
37 f.: color.; 29 cm.

TCC - Graduação em Ciências Biológicas - Licenciatura
- Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, 2022.

Inclui bibliografia

Orientador: Rocha, Marcelo Salles

Coorientador: Barros, André de Lima

1. Variação geográfica. 2. Delimitação de espécies. 3. Delimitação de espécies. I. Rocha, Marcelo Salles (Orient.). II. Barros, André de Lima (Coorient.). III. Universidade do Estado do Amazonas. IV. ANÁLISE MORFOMÉTRICA DE *Osteocephalus taurinus* (ANURA: HYLIDAE)

Elaborado por Jeane Macelino Galves - CRB-11/463

THAINÁ NAJAR MATOS DE MORAES

ANÁLISE MORFOMÉTRICA DE *Osteocephalus taurinus* (ANURA: HYLIDAE)

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do título de Licenciada em Ciências Biológicas, pela Universidade do Estado do Amazonas.

Banca Examinadora

Dra. Jaqueline Custódio da Costa

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA

Dr. André de Lima Barros

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA

Dr. Waldir Heinrichs Caldas

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA

CONCEITO: Aprovado

Manaus, 06 de Maio de 2022.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todas as mulheres, cientistas ou não, que vieram antes de mim e que permitiram que eu ocupasse esse lugar. Nós, mulheres, temos sempre que nos dedicar o dobro se quisermos ocupar o lugar que é dado a um homem com facilidade. Não é fácil. Muitas vezes nos fazem acreditar que não merecemos chegar aonde chegamos. É graças a mulheres corajosas, guerreiras e de fibra que eu escrevo esse agradecimento hoje. Minha família é composta essencialmente por mulheres, e é a elas a quem eu agradeço especialmente, Zózima, Dora, Amélia, Jamily, Nathália, Tereza e Thais. Todas mulheres fortes, que eu tenho orgulho de me inspirar.

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos vão ao meu orientador e coorientador, Marcelo e André, por terem dedicado seu tempo a me ensinar um pouco do que sabem.

- À Coleção Herpetológica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA por terem aberto suas portas para a condução do meu estudo.

- À Isaac Cabral e Micael Cavalli pela ajuda com as análises e figuras.

- Aos amigos que fiz nesses anos de graduação, em especial à Talita e Fernanda, que estão comigo desde o primeiro dia na Escola Normal Superior, a quem eu amo profundamente, e não faço distinção entre ambas.

- E por fim, gostaria de agradecer imensamente a minha preciosa família, meu pais, Walter e Dora (*in memorian*), por terem investido na minha educação e por sempre acreditarem no meu potencial. E às minhas irmãs, Thais, Nathalia e Tereza, por todo apoio e amor de sempre.

RESUMO

A Amazônia abriga uma alta riqueza de espécies, entretanto, as florestas neotropicais como um todo, encontram-se mal estudadas e possivelmente, subamostradas. Estudos com vários grupos taxonômicos, incluindo anfíbios, têm mostrado que a diversidade pode ser ainda maior do que o imaginado, revelando altas taxa de criptodiversidade. Para explicar a alta biodiversidade amazônica existem teorias que consideram principalmente, 1) mudanças na paisagem, 2) variações climáticas históricas e em menor escala, 3) fatores ecológicos. Anuros do gênero *Osteocephalus* são amplamente distribuídos, ocupando florestas tropicais da Bacia Amazônica e Região das Guianas. Constitui um grupo rico em espécies crípticas, sendo reconhecido por não alcançar estabilidade taxonômica, onde são frequentes estudos de sinonímia e ressuscitação de espécies. Neste contexto avaliamos se a morfometria em *O. taurinus* varia em populações de diferentes localidades. Foram aferidos 16 parâmetros morfométricos para 175 espécimes de *O. taurinus* depositados na coleção herpetológica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Utilizamos uma Análise Discriminante Linear (LDA) para testar diferenças significativas na morfometria os indivíduos avaliados. Nossos resultados mostraram uma fraca acertabilidade na discriminação das populações quando analisadas por localidade geográfica (44% de acerto). Já quando analisados os grupos de acordo com o relevo, em uma comparação planície vs escudos, os agrupamentos tiveram maior acertabilidade (79%).

Palavras-chaves: Variação geográfica, Delimitação de espécies, Espécies crípticas.

ABSTRACT

The Amazon is home to a high species richness, however, neotropical forests as a whole are poorly studied and possibly under-sampled. Studies with various taxonomic groups, including amphibians, have shown that the diversity may be even greater than imagined, revealing high rates of cryptodiversity. To explain the high biodiversity of the Amazon, there are theories that mainly consider 1) changes in the landscape, 2) historical climatic variations and to a lesser extent, 3) ecological factors. Anurans of the genus *Osteocephalus* are widely distributed, occupying tropical forests in the Amazon Basin and Guiana Region. It constitutes a group rich in cryptic species, being recognized for not reaching taxonomic stability, where studies of synonymy and species resuscitation are frequent. In this context, we evaluated whether the morphometry in *O. taurinus* varies in populations from different localities. Sixteen morphometric parameters were measured for 175 specimens of *O. taurinus* deposited in the herpetological collection of the Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). We used a Linear Discriminant Analysis (LDA) to test significant differences in the morphometry of the evaluated individuals. Our results showed a poor accuracy in the discrimination of populations when analyzed by geographic location (44% accuracy). When analyzing the groups according to the relief, in a plain vs shield comparison, the groups had greater accuracy (79%).

Keywords: Geographic variation, Species delimitation, Cryptic species.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Distribuição geográfica da espécie <i>Osteocephalus taurinus</i>	15
Figura 2 - <i>Osteocephalus taurinus</i> sensu stricto.....	16
Figura 3 - Distribuição espacial das populações de <i>Osteocephalus taurinus</i> e os grupos analisados	19
Figura 4 - Esquema dos parâmetros morfométricos utilizados para análise de <i>Osteocephalus taurinus</i>	22
Figura 5 – Localização geográfica dos grupos utilizados na segunda Análise Discriminante Linear, assim como os grupos ao qual foram designadas.....	23
Figura 6 - Gráfico mostrando os agrupamentos formados pela primeira Análise Discriminante Linear.....	26
Figura 7 - Gráfico mostrando os agrupamentos formados pela segunda Análise Discriminante Linear.....	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Sigla e descrição das variáveis morfométricas.....	19
Tabela 2 - Amplitude de variação (em mm), média e desvio padrão (DP) das medidas morfométricas avaliadas em indivíduos <i>Osteocephalus taurinus</i>	24
Tabela 3 - Resumo dos grupos formados e dados pela primeira Análise Discriminante Linear.....	25
Tabela 4 - Variáveis mais significativas na discriminação dos grupos na primeira Análise Discriminante Linear e seus respectivos valores no Eixo 1 e no Eixo 2.....	26
Tabela 5 - Resumo dos grupos formados e dados da segunda Análise Discriminante Linear.....	27
Tabela 6 - Variáveis mais significativas na discriminação dos grupos na segunda Análise Discriminante Linear e seus respectivos valores no Eixo 1 e no Eixo 2.....	28

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AC – Altura da cabeça.

AO – Altura do olho.

AT – Altura do tímpano.

CA – Comprimento do antebraço.

CB – Comprimento do braço.

CC – Comprimento da cabeça.

CCX – Comprimento da coxa.

CM – Comprimento da mão.

CP – Comprimento do pé.

CRC – Comprimento rostro-cloacal.

CTB – Comprimento da tíbia.

CTS – Comprimento do tarso.

DEN- Distância entre as narinas.

DO – Diâmetro do olho.

DT – Diâmetro do tímpano.

INPA – Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia

LC – Largura da cabeça.

LDA – Análise Discriminante Linear.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
1.2. OBJETIVOS	17
1.2.1 Objetivo Geral	17
1.2.2 Objetivos Específicos	18
2. MATERIAL E MÉTODOS	18
2.1. Levantamento do material biológico	18
2.2. Análises dos parâmetros morfométricos	19
2.3. Análises estatísticas	22
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4. CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS	30

1. INTRODUÇÃO

A Amazônia abriga uma alta riqueza de espécies, sendo o local com maior biodiversidade do planeta, entretanto, as florestas neotropicais como um todo, encontram-se mal estudadas, levando a um número subestimado de espécies (BEHEREGARAY, 2008). Um dos principais fatores mencionados como causa da subamostragem é a grande extensão do bioma amazônico, assim como a falta de recursos para explorá-lo (BEHEREGARAY, 2008). Tais características impedem que haja um conhecimento taxonômico extensivo sobre a fauna e a flora local, fazendo com que o conhecimento até hoje adquirido seja incipiente em relação a dimensão do bioma (JENKINS *et al.* 2013).

Felizmente, este cenário tem mudado de modo que, as florestas tropicais têm sido alvo de diversos estudos em relação a sua biodiversidade. Neste sentido, estudos com diversos grupos taxonômicos, têm mostrado que esta diversidade pode ser ainda maior do que o imaginado. Este fenômeno já foi encontrado em borboletas, roedores, serpentes e peixes (HEBERT *et al.* 2004; PAVAN *et al.* 2017; BERNARDE *et al.* 2018; SANTANA *et al.* 2019). Para anuros, Vacher *et al.* (2020) mostraram que a diversidade está severamente subestimada na Amazônia, sendo capaz de ampliar de 440 espécies descritas para até 876 espécies candidatas, das quais 82% seriam endêmicas do bioma. Reflexo desta falta de conhecimento taxonômico é que a todo momento espécies de anuros têm sido descobertas e descritas, principalmente com a aplicação de técnicas de análises genéticas e moleculares aliadas à sistemática (VACHER *et al.* 2020; MÂNGIA *et al.* 2020; MOTA *et al.* 2020; STURARO *et al.* 2020).

Por de trás dessa grande riqueza, existem diversas teorias que tentam associar a diversidade biótica à história da Terra, levando em consideração principalmente 1) as mudanças na paisagem (WALLACE, 1852; CRACRAFT, 1985) e 2) as variações climáticas históricas (HAFFER, 1969). Estes dois processos são os principais mecanismos reconhecidos como geradores de biodiversidade, pois causam interrupção do fluxo gênico e posterior especiação. Essas teorias tem sido amplamente usadas como uma explicação clássica para padrões de biodiversidade, pois limitariam o fluxo gênico entre as populações dispostas em diferentes áreas, proporcionando especiação alopátrica (WALLACE, 1852; HAFFER, 1969;

VANZOLINI e WILLIAMS, 1981; CRACRAFT, 1985; RIBAS *et al.* 2012; GODINHO e DA SILVA, 2018, RÉJAUD *et al.* 2020).

Embora sejam as mais aceitas como explicação para a biodiversidade amazônica, a Teoria dos Rios como barreiras e a Teoria dos Refúgios têm sido questionadas ao longo do tempo. Acredita-se que alguns rios podem ser barreiras mais eficientes do que outros a depender do grupo taxonômico estudado, sendo a eficiência da barreira diretamente ligada a fatores como a ecologia da espécie de estudo, assim como da idade e da força do rio (FOUQUET *et al.* 2014; MORAES *et al.* 2016). Já em relação aos refúgios climáticos do Pleistoceno, alguns autores apontam que a mudança no clima não foi tão brusca quanto a sugerida por Haffer (1969), assim como, os resultados encontrados podem ter sido um artefato da intensidade da coleta (BUSH, 1994; WANG *et al.* 2017). Desse modo, muito acerca dos fenômenos que geram biodiversidade precisam ser entendidos.

De acordo Hoorn *et al.* (2010), a paisagem amazônica como é conhecida hoje é um reflexo de diversas mudanças ocorridas ao longo de milhares de anos, a elevação dos Andes e seu efeito no clima tiveram uma grande influência na paisagem da América do Sul como um todo, incluindo na Amazônia. Atualmente, o processo da formação da alta diversidade amazônica é entendido como um fenômeno longo e complexo, dificilmente explicado por um único fator, seja ele de clima ou de paisagem, entendendo-se, na verdade, que estes fatores devem ter atuado em sinergia (BUSH, 1994).

Tais processos podem produzir criptodiversidade, um fenômeno comum entre diversos táxons amazônicos, onde espécies morfologicamente semelhantes ficam ocultas sob o mesmo epíteto específico (BICKFORD *et al.* 2006). Desde a popularização de técnicas genéticas e moleculares, estudos com essas ferramentas têm apontado para um cenário de alta diversidade críptica, especialmente sob anuros amazônicos (FOUQUET *et al.* 2007; JUNGFER *et al.* 2013; MOTA *et al.* 2020). Diversidade críptica é um fenômeno tão difundido que existem questionamentos da real existência de espécies nominais amplamente distribuídas, uma vez que espécies espacialmente segregadas tendem a exibir diferenças morfológicas, ecológicas e genéticas (WYNN e HEYER, 2001).

O estudo da morfologia dos animais é uma ferramenta bastante utilizada não apenas na taxonomia alpha (descrição de espécies), mas também na busca do entendimento de padrões biogeográficos e diversificação fenotípica (MARCELINO *et al.* 2009; VIEIRA *et al.* 2008).

Estudos sistemáticos baseados na fisionomia dos organismos requerem técnicas para descrever e comparar estas estruturas (ROHLF, 1990, BERNAL e CLAVIJO, 2009). Devido à importância das estruturas do corpo, principalmente tamanho corporal, na ecologia, nas histórias de vida e no sucesso reprodutivo da maioria dos organismos, padrões interespecíficos de variação no tamanho do corpo podem refletir padrões de divergência. Além disso, estudos baseados em características morfológicas de anuros permitiram explicar as relações evolutivas, taxonômicas e filogenéticas, permitindo desvendar problemáticas de espécies com identidade taxonômica incerta (MÉNDEZ *et al.* 2005; FABREZI, 2006).

Os anfíbios, anuros em especial, são um dos grupos mais diversos entre os vertebrados, chegando ao número de 1188 espécies descritas no Brasil, mostrando como o país tem uma das maiores riquezas se tratando de anuros (SEGALLA *et al.* 2021). Para a Floresta Amazônica, a riqueza de espécies de anuros é geralmente estimada entre 400 e 600 espécies (DA SILVA, RYLANS e FONSECA, 2005; GODINHO e DA SILVA, 2018). Entretanto, Vacher *et al.* (2020) extrapolaram resultados encontrados nos Escudo das Guianas para as outras biorregiões amazônicas e estimou que esse número seja de quatro a cinco vezes maior, chegando ao total de 2.000 espécies de anuros.

O gênero de anuro hilídeo *Osteocephalus* Steindachner, 1862 inclui 27 espécies descritas e distribuídas ao longo de florestas tropicais desde o Brasil até a Bolívia, Peru, Colômbia, Venezuela e Guiana (FROST *et al.* 2022). Espécies do gênero *Osteocephalus* geralmente ocupam áreas de floresta primária ou secundária, com algumas espécies podendo ocorrer em áreas antropizadas (TRUEB e DUELLMAN, 1971). Constituem um grupo rico em espécies crípticas, como indicado através de dados moleculares por JUNGFER *et al.* (2013) e por análises de vocalização por DE LA RIVA *et al.* (1995). É um gênero reconhecido por não alcançar estabilidade taxonômica, sendo frequentes os estudos de sinonímia, ressuscitação e descrição de novas espécies (JUNGFER, 2010; BLOTTO *et al.* 2020a; MELO-SAMPAIO, 2021). Além disso, o gênero não possui uma sinapomorfia testada filogeneticamente, as apontadas até o momento são generalizações, corroborando com a dificuldade em relação a identificação destas espécies e constantes sinonímias no gênero. O gênero pertence à tribo Lophyohylini, que inclui as pererecas conhecidas como cabeça de casco ou perereca de capacete. Blotto *et al.* (2020a) revisaram as relações filogenéticas desta tribo e em recente estudo, analisaram a musculatura de pés e mãos de uma espécie da tribo, na tentativa de se observar uma sinapomorfia fenotípica (BLOTTO *et al.* 2020b).

A espécie *Osteocephalus taurinus* foi descrita por Steindachner, 1862 e foi a primeira descrita formalmente no gênero *Osteocephalus*, sendo designada como espécie tipo. Ainda em Steindachner (1862) é descrita *O. flavolineatus*, mais tarde concluído apenas como uma variação de cor de *O. taurinus*. A localidade tipo designada por Steindachner foi “Barra do Rio Negro” atualmente conhecida como a cidade de Manaus - AM, Brasil (FROST, 2022). No entanto, a espécie é uma perereca amplamente distribuída por toda a Bacia Amazônica, assim como pela Bacia do Orinoco, ocupando países como Brasil, Bolívia, Peru, Colômbia, Venezuela e Guianas (Figura. 1). Em contexto, espécies de anuros com amplas distribuições geográficas costumam estar estruturadas em diferentes linhagens, sendo a ampla distribuição um dos fatores mencionados por Gehara *et al.* (2013) como parte dos padrões de complexos de espécies. Para uma espécie de anuro amazônico Kaefer *et al.* (2013) demonstraram uma correlação positiva entre a distância geográfica e a distância genética.



Figura 1- Distribuição geográfica da espécie *Osteocephalus taurinus*. Fonte: IUCN, 2022.

Osteocephalus taurinus é uma espécie de porte grande, o tamanho total dos machos varia de 71-92 mm, enquanto que as fêmeas variam entre 90-101 mm (LIMA, *et al.* 2006) (Figura 2). Além do tamanho, machos e fêmeas podem ser diferenciados pela presença de sacos vocais duplos nos machos, dispostos na parte lateral da cabeça e também pela textura da pele, que é rugosa nos machos e, lisa nas fêmeas, caracterizando dimorfismo sexual (TRUEB e DUELLMAN, 1971). A cor da pele do dorso varia amplamente, principalmente de marrom-claro a escuro, além disso, alguns indivíduos possuem uma linha transversal clara na região central do dorso. O padrão de manchas do ventre, principalmente perto da região angular, também é variável, mas costuma ser creme com pequenas manchas marrons-claras. As coxas

possuem barras transversais de marrom mais escuro. A íris é dourada com linhas radiais negras (LIMA *et al.* 2006).

Assim como outras espécies do gênero, em *O. taurinus* foram constantes os casos de confusões taxonômicas, múltiplos nomes com invalidação e ressuscitação de espécies. Trueb e Duellman (1971) foram os primeiros a fazer uma revisão do gênero, trazendo um histórico detalhado de todos os casos. De acordo com estes autores, os erros mencionados são devido à grande variação de cores em *O. taurinus*, assim como, o dimorfismo sexual entre machos e fêmeas (TRUEB e DUELLMAN, 1971).



Figura 2 - *Osteocephalus taurinus sensu stricto*. Foto: André de Lima Barros.

A espécie possui hábitos arborícolas e noturnos, frequentemente avistados em troncos e galhos (LIMA *et al.* 2006). Reproduzem-se durante todo o ano, após chuvas fortes, mas em maior frequência no início da época chuvosa, reunindo-se em grupos e vocalizando em arbustos ou imersos em pequenos corpos d'água (LIMA *et al.* 2006). A desova contém cerca de 2000 ovos pretos e é depositada como uma película na superfície d'água de poças temporárias e os girinos são predadores vorazes de ovos da própria e de outras espécies, embora mais informações sobre a ecologia e história de vida desta espécie sejam escassas (LIMA *et al.* 2006).

Estudos bioacústicos (DE LA RIVA *et al.* 1995) e genéticos (JUNGFER *et al.* 2013) sugerem a existência de várias linhagens dentro do que hoje é conhecido como *O. taurinus*. Além disso, análises de marcadores moleculares já demonstraram diferença entre as populações da espécie, se forem considerados todos os interflúvios da Amazônia (ORTIZ *et al.* 2018). Baseado nessas problemáticas e na falta de estabilidade taxonômica do gênero *Osteocephalus* levantamos a hipótese de que *O. taurinus* é composto por mais de uma espécie, constituindo diversidade críptica, tornando relevante o estudo de suas características morfológicas para futura delimitação. A delimitação de espécies sempre foi um alvo importante dos estudos biológicos, desde os primeiros naturalistas. Mesmo assim, muito ainda permanece desconhecido acerca da fauna e flora, especialmente nas regiões onde faltam recursos e infraestrutura para explorar esse viés, tal como a Amazônia (BEHENGARY, 2008).

Embora a correta delimitação das espécies seja fundamental para acessar informações biológicas, nem sempre esta é uma tarefa fácil. O próprio conceito de espécie permanece até hoje indefinido, havendo constante discussão e surgimento de novos conceitos (ALEIXO, 2009; DE QUEIROZ, 2007; HAUSDORF, 2011). Neste sentido, trabalhos de viés taxonômico podem vir a auxiliar, juntamente com técnicas da biologia integrativa, na individualização de diferentes populações a nível de espécies, permitindo acessar informações acerca da biodiversidade. Para anuros, os modos reprodutivos, cariótipo e principalmente, vocalização têm sido usados para diferenciação (HADDAD e PRADO, 2005; WOGEL e POMBAL, 2007; SIQUEIRA *et al.* 2009; FOUQUET *et al.* 2014). Para se conhecer uma espécie, sendo ela nova ou não, os caracteres morfológicos que permitem sua distinção em relação às outras são de grande importância. Entretanto, os anuros são conhecidos por apresentar um alto grau de conservacionismo morfológico, necessitando de muitas gerações para que sejam percebidas alterações (LOUGHEED, *et al.* 2006). Neste contexto, vale ressaltar a importância dos estudos taxonômicos, assim como de métodos complementares às análises morfológicas para investigar a diversidade biológica.

1.2. OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Analisar os parâmetros morfométricos de indivíduos de *O. taurinus* depositados na coleção Herpetológica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA).

1.2.2 Objetivos Específicos

- (1) Avaliar potenciais diferenças morfométricas de indivíduos de *O. taurinus* coletados em diferentes áreas geográficas;
- (2) Comparar os parâmetros morfométricos entre as diferentes populações de *O. taurinus*;
- (3) Verificar se a morfometria difere intrapopulacional e interpopulacionalmente.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Levantamento do material biológico

Para este estudo, foi realizado um levantamento de todos os espécimes de *O. taurinus* disponíveis na Coleção Herpetológica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA. Esse material foi listado e agrupado de acordo com a localidade geográfica. Posteriormente, foram averiguadas as coordenadas geográficas da coleta disponíveis no banco de dados da Coleção, quando disponível. Para os espécimes que não possuíam dados da área de coleta, foi procurada a localização mais próxima e tomada a coordenada, no *software Google Earth*. Através destas coordenadas geográficas foi possível reunir todas as amostras em grupos geográficos (Figura. 3).

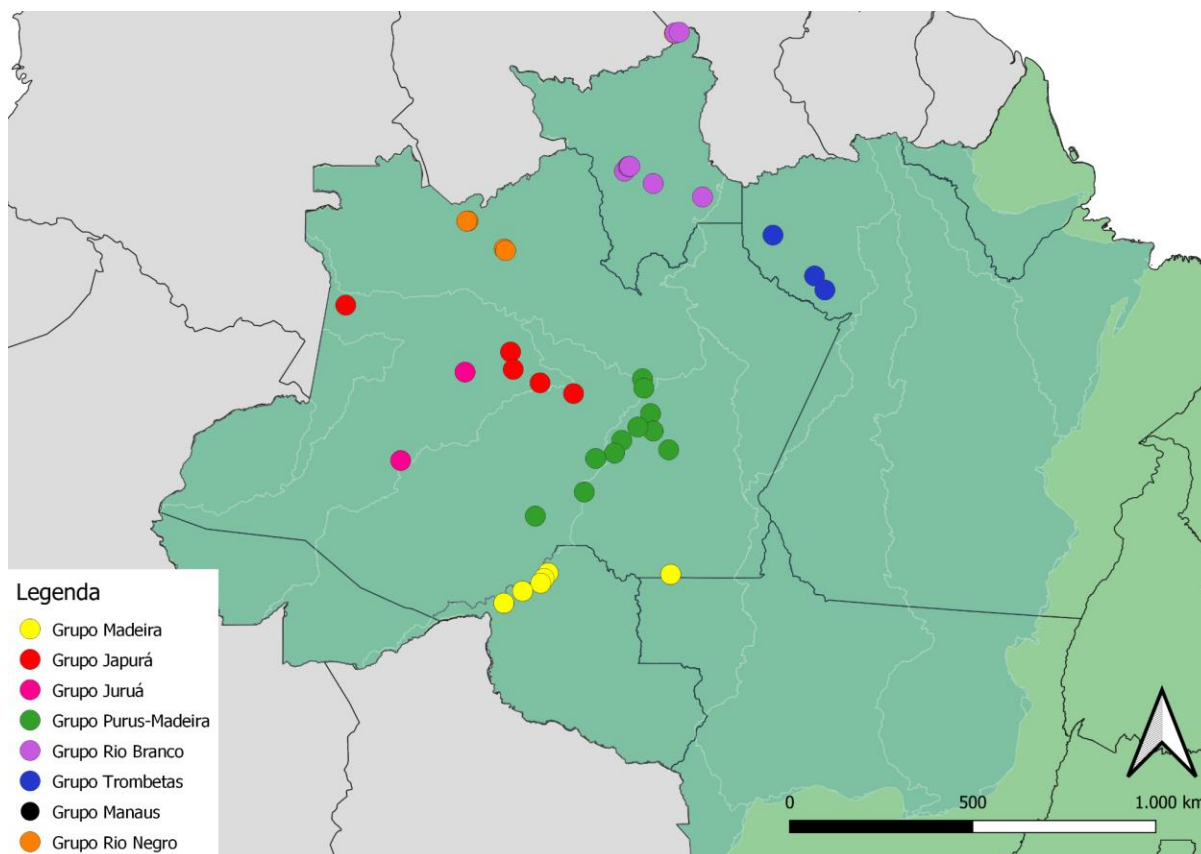


Figura 3 - Distribuição espacial das populações de *Osteocephalus taurinus* e os grupos analisados.

2.2. Análises dos parâmetros morfométricos

Para análise morfométrica da espécie foram examinados 200 indivíduos de *O. taurinus*, dos quais 175 puderam ser considerados nas análises. Os outros 25 espécimes foram retirados das análises pois possuíam medidas consideradas imprecisas ou havia dúvida taxonômica razoável. Os espécimes estavam preservados em álcool e depositados na Coleção Herpetológica do INPA. Os parâmetros morfométricos escolhidos seguem as recomendações de Watters *et al.* (2016). No total foram tomados 16 parâmetros morfométricos (Tabela 1: Figura. 4, em cada um dos indivíduos utilizando paquímetro digital (precisão 0,01 milímetros). As medidas laterais foram feitas do lado esquerdo dos animais. Todas as medidas, assim como as descrições estão listadas na tabela 1.

Tabela 1 - Sigla e descrição das variáveis morfométricas.

SIGLA	DESCRIÇÃO
-------	-----------

CRC	Comprimento total, medido da região do rostro até a cloaca.
------------	---

CC	Comprimento da cabeça, medido da ponta do focinho até o final do tímpano.
-----------	---

LC	Largura da cabeça, medido de uma extremidade a outra da cabeça, abaixo da região ocular.
-----------	--

AC	Altura da cabeça, medido da parte superior da cabeça até a parte inferior da mandíbula.
-----------	---

DEN	Distância entre as narinas, medido de uma extremidade a outra da narina.
------------	--

DO	Diâmetro do olho, medido de uma extremidade a outra do olho, no plano horizontal.
-----------	---

AO	Altura do olho, medido de uma extremidade a outra do olho, no plano vertical.
-----------	---

DT	Diâmetro do tímpano, medido de uma extremidade a outra do tímpano, no plano horizontal.
-----------	---

AT	Altura do tímpano, medido de uma extremidade a outra do tímpano, no plano vertical.
-----------	---

CM	Comprimento da mão, medido da extremidade do tubérculo palmar até a ponta do III artelho.
-----------	---

CB	Comprimento do braço, medido da inserção no abdômen até a ponta do cotovelo flexionado.
-----------	---

CA Comprimento do antebraço, medido da extremidade do tubérculo palmar até o cotovelo flexionado.

CCX Comprimento da coxa, medido da inserção do fêmur até a ponta do joelho flexionado.

CTB Comprimento da tíbia, medido da ponta do joelho flexionado até a articulação proximal.

CTS Comprimento do tarso, medido da ponta da articulação proximal até o calcânhar.

CP Comprimento do pé, medido do calcânhar até a ponta do IV artelho.

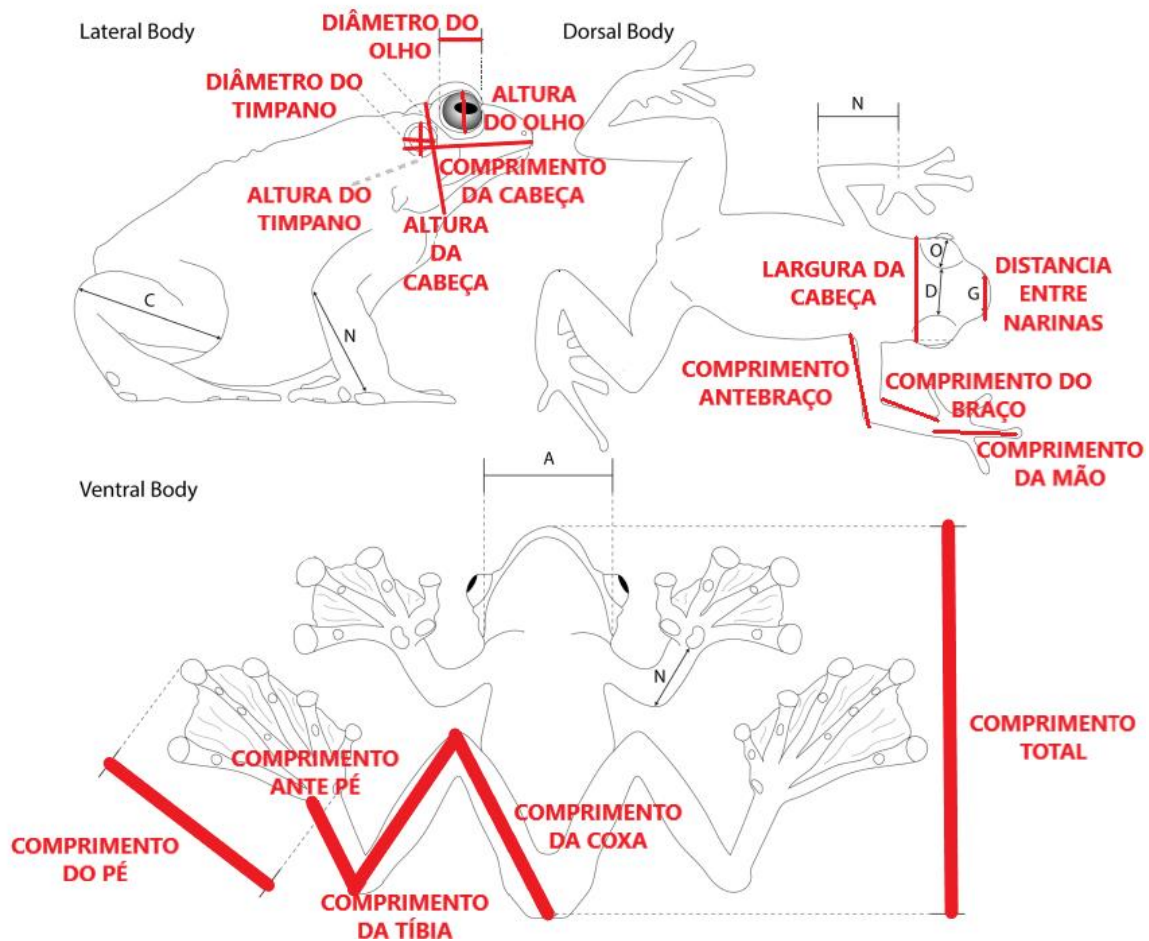


Figura 4 – Esquema dos parâmetros morfométricos que serão analisados em *Osteocephalus taurinus*. Adaptado de Watters *et al.* 2016.

2.3. Análises estatísticas

Os dados obtidos pela morfometria de *O. taurinus* foram logaritimizados para reduzir os desvios de normalidade e efeitos de distorção causados por relações morfométricas. Posteriormente foram realizadas Análises Discriminantes Lineares (LDA's), a fim de verificar possíveis variações nas amostras e formações de grupos. A LDA é uma análise multivariada utilizada na discriminação e na classificação de objetos, sendo capaz de separar uma amostra em dois grupos ou mais (BALAKRISHNAMA e GANAPATHIRAJU, 1998). Esse tipo de análise também é capaz lidar facilmente com o caso em que as frequências dentro dos grupos são desiguais, reduzindo assim, efeitos do tamanho da amostra (BALAKRISHNAMA e GANAPATHIRAJU, 1998). Para essa análise foi utilizado o *software* PAST versão 4.03 (HAMMER *et al.*, 2001).

Na primeira LDA os grupos utilizados na análise refletiam a localização geográfica das amostras sendo eles: 1 - Grupo Manaus, 2 - Grupo Purus-Madeira, 3 - Grupo Trombetas, 4 - Grupo Juruá, 5 - Grupo Japurá, 6 - Grupo Rio Negro e 7 - Grupo Rio Branco (Figura. 3). Posteriormente, foi realizada uma segunda LDA, apenas com 3 agrupamentos, que foram definidos pelo relevo encontrado na área de distribuição das amostras, sendo eles 1 - Escudo brasileiro, 2 - Escudo das Guianas e 3 - Planície amazônica (Figura. 5). Para esta análise houve um delineamento do tamanho corporal, sendo considerados apenas os espécimes com CRC maiores que 80 mm, totalizando 81 indivíduos.

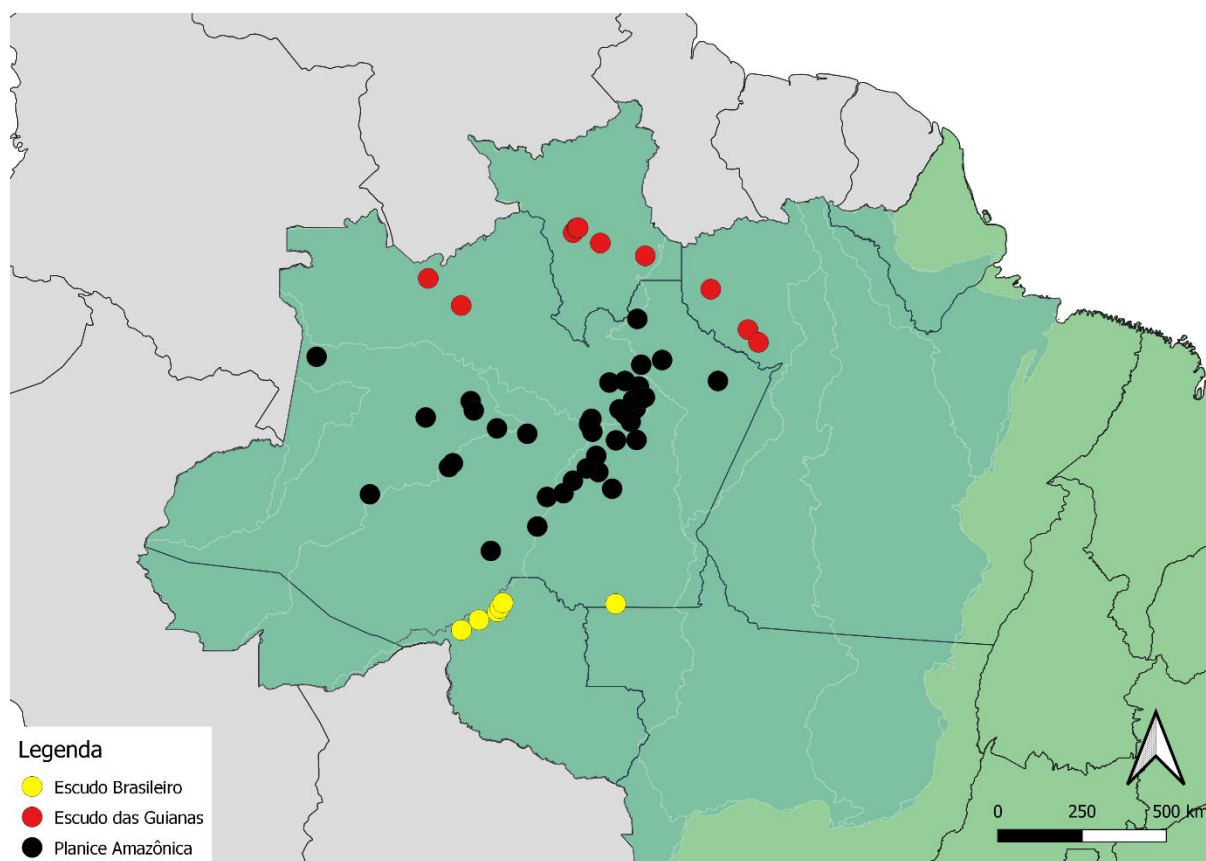


Figura 5. Localização geográfica dos grupos utilizados na segunda Análise Discriminante Linear, assim como os grupos ao qual foram designadas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os principais valores gerados a partir da mensuração das variáveis morfométricas de *O. taurinus* são apresentados na Tabela 2. Os valores encontrados variam pouco dos já descritos na literatura para a espécie, que apresenta um porte grande. Em relação a medida rostro-cloacal, a principal medida utilizada para anuros, o tamanho foi próximo ao relatado por Lima *et al.* (2006), que estabelece o tamanho máximo em 101 mm, no atual estudo amplia-se esse valor

para no máximo 106 mm. No entanto, a falta de trabalhos taxonômicos, principalmente do grupo *O. taurinus* inviabiliza uma comparação entre as demais variáveis.

A alta variação presente na Tabela 2 mostra a grande variabilidade intraespecífica de *O. taurinus*. A máxima variação foi encontrada no comprimento da tíbia (CTB), seguido do comprimento da coxa (CCX) e comprimento do pé (CP). A variabilidade intraespecífica de *O. taurinus* é bem conhecida para caracteres da fisionomia externa como padrões de coloração corporal, do ventre e do dorso, padrões de manchas e texturas da pele, mas pouco se sabe sobre padrões morfométricos (TRUEB e DUELLMAN, 1971; ESTUPIÑAN-TRISTANCHO, 2001).

Tabela 2 - Amplitude de variação (em mm), média e desvio padrão (DP) das medidas morfométricas avaliadas em indivíduos *Osteocephalus taurinus* (N = 175).

MEDIDAS MORFOMÉTRICAS	AMPLITUDE DE VARIAÇÃO	MÉDIA (DP)
Comprimento rostro-cloacal	48.63 - 106.15	78.18 (1.12)
Comprimento da cabeça	15.65 - 32.53	24.94 (3.36)
Largura da cabeça	5.66 - 28.9	21.03 (3.12)
Altura do olho	3.07 - 10.83	5.8 (1.17)
Altura da cabeça	3.3 - 10.49	7.27 (1.23)
Diâmetro do olho	3.15 - 9.11	6.85 (0.96)
Distância olho narina	4.2 - 7.81	5.94 (0.73)
Altura do tímpano	2.48 - 6.68	4.86 (0.76)
Diâmetro do tímpano	3.08 - 7.4	5.64 (0.81)
Comprimento da mão	2.87 - 33.57	24.38 (4.18)
Comprimento do braço	8.53 - 21.21	15.05 (2.32)
Comprimento do antebraço	6.2 - 44.85	11.24 (3.22)
Comprimento do pé	20.4 - 43.47	32.28 (4.97)
Comprimento do tarso	12.09 - 46.58	19.85 (3.50)
Comprimento da tíbia	26.58 - 59.28	42.76 (6.47)
Comprimento da coxa	24.61 - 55.26	40.77 (6.14)

Na primeira LDA, a separação dos grupos que a priori ocorreu por coordenadas geográficas, a análise mostrou acerto em apenas 44% dos agrupamentos formados. Ao todo, 98 indivíduos foram mal classificados, dentre os 175 analisados. De acordo com Gonçalves (2010), as análises discriminantes realizadas em espécies de pererecas do grupo *Phyllomedusa burmeisteri* apresentaram baixa discriminação (valores inferiores a 70% de acerto), quando utilizado apenas a distribuição geográfica das espécies como forma de agrupamento. Na Tabela

3 é possível observar os grupos dados e os grupos sugeridos pela análise. Vê-se que o grupo com mais acertos foi o grupo formado pelas amostras do Rio Juruá, com 5 acertos. Já o grupo das amostras coletadas no interflúvio Purus-Madeira teve a menor quantidade de acertos, das 52 amostras, apenas 18 realmente foram realmente alocadas nesse grupo.

Tabela 3 - Resumo dos grupos dados e formados pela primeira Análise Discriminante Linear. Colunas representam os grupos sugeridos e linhas representam os grupos dados.

	G. JAPURÁ	G. JURUÁ	G. MADEIRA	G. MANAUS	G. PURUS- MADEIRA	G. RIO BRANCO	G. RIO NEGRO	G. TROMBETAS	Tot al
G. JAPURÁ	8	0	0	2	0	1	1	0	12
G. JURUÁ	1	5	0	0	0	0	0	0	6
G. MADEIRA	0	0	11	1	0	2	0	0	14
G. MANAUS	2	5	7	14	8	1	5	5	47
G. PURUS- MADEIRA	3	6	3	10	18	8	1	3	52
G. RIO BRANCO	1	1	4	1	1	10	3	0	21
G. RIO NEGRO	2	1	2	2	0	1	9	0	17
G.TROMB ETAS	1	0	1	2	0	0	0	2	6
Total	18	18	28	32	27	23	19	10	175

A variável comprimento da coxa (CCX) foi a que mais influenciou na primeira na análise discriminação, seguido por comprimento da tíbia (CTB) e comprimento do pé (CP) no eixo 1, enquanto comprimento da coxa (CCX), comprimento da cabeça (CC) e comprimento do braço (CB) foram as que mais influenciaram no eixo 2, respectivamente (Tabela. 4).

Tabela 4 - Variáveis mais significativas na discriminação dos grupos na primeira LDA e seus respectivos valores no Eixo 1 e no Eixo 2.

	Eixo 1		Eixo 2
CCX	142.07	CCX	134.27
CTB	-115.56	CC	125.17

CP	75.593	CB	115.44
-----------	--------	-----------	--------

A figura 6 mostra os agrupamentos da primeira LDA, embora não haja uma separação evidente da maioria dos grupos, é possível observar que o Grupo Trombetas (azul) está completamente separado do Grupo Madeira (amarelo). O grupo Madeira também se diferencia do grupo Japurá (vermelho).

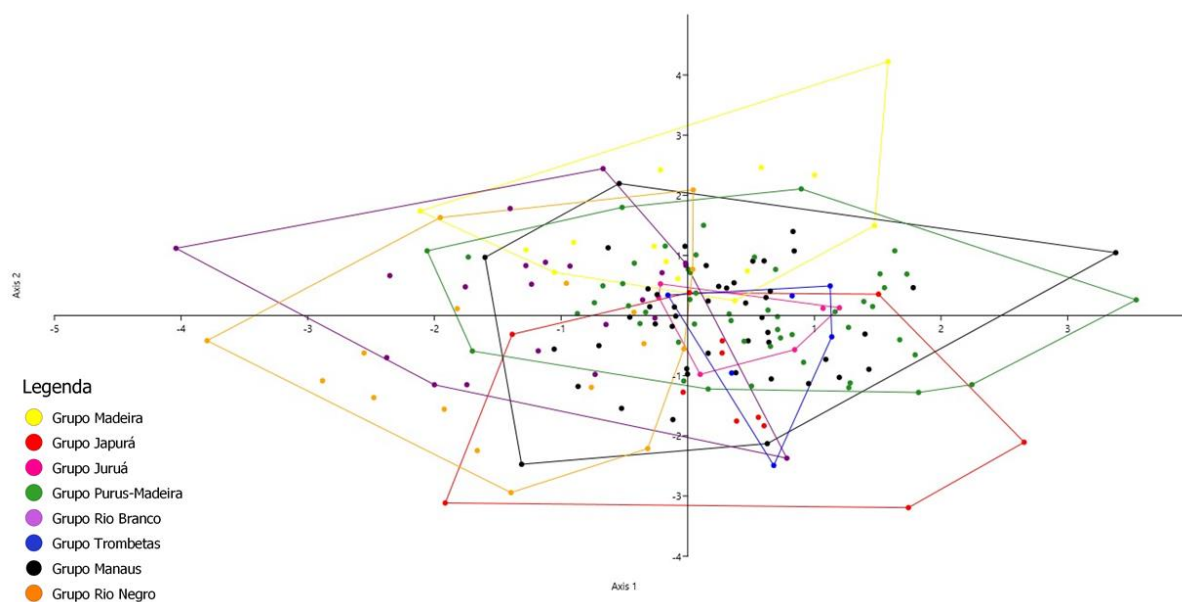


Figura 6 - Gráfico mostrando os agrupamentos formados pela Análise Discriminante Linear.

É razoável supor que um dos motivos prováveis para distinção desses grupos seria a acentuada distância geográfica entre eles. O efeito da separação geográfica na diferenciação de espécies é amplamente conhecido, sendo às vezes, considerado um pré-requisito a diferenciação de espécies (MAYR, 1942; IRWIN *et al.* 2005). Os anfíbios em geral tendem a ser afetados pela distância pois este é um grupo com baixa capacidade de dispersão e filopatria dos sítios natais (WELLS, 2010; DUELLMAN, 1982). Essas características em particular, tendem a promover a diversificação, produzir padrões filogeográficos fortemente estruturados e altos níveis de endemismo (DUELLMAN, 1999; ZEISSET e BEEBEE, 2008). Além disso, estudos de variação geográfica em anfíbios têm mostrado que o grupo tende a possuir populações estruturadas geneticamente, com fluxo gênico diminuindo conforme aumenta a distância geográfica entre estas populações (NEWMAN e SQUIRE, 2001; LAMPERT *et al.* 2003; MARCHESINI *et al.* 2017; KOBAYASHI *et al.* 2018).

Para *O. taurinus*, Ortiz *et al.* (2018) sugeriram com base em dados moleculares, diferentes linhagens ao longo do Amazonas. No entanto, nossos dados morfométricos não

foram capazes de confirmar esta distinção. Muitos estudos com anfíbios encontraram diferenças genéticas significativas a nível intraespecífico, mas ainda assim difíceis de serem identificados através da morfologia (WANG *et al.* 2008; PADIAL e DE LA RIVA, 2009; RODRIGUEZ *et al.* 2010). Nesse sentido, estudos integrativos são necessários para esclarecer as relações entre as linhagens de *O. taurinus*, uma vez que qualquer delimitação baseada na aplicação de apenas uma única linha de evidência poderia ser enganosa, e gerar falsas explicações sobre a diversidade da espécie. Podemos observar que provavelmente as medidas morfométricas avaliadas em nosso estudo apresentem um padrão mais conservado e que não conseguem seguir o padrão de diversidade genética demonstrado por Ortiz *et al.* (2018).

Nos demais grupos houve completa sobreposição, impossibilitando uma separação. A falta de discriminação pela LDA pode estar relacionada com a aleatoriedade com o qual as amostras foram agrupadas. O agrupamento com base nas coordenadas geográficas buscava refletir os principais rios amazônicos, um fator já conhecido como barreira ao fluxo gênico, sendo viável a diferenciação de grupos de anuros amazônicos (MORAES, 2016; GODINHO e DA SILVA, 2018), mas nossos resultados não foram capazes mostrar essa diferença, tampouco uma discriminação associada aos principais rios.

Já na segunda LDA, realizada com os agrupamentos em função do relevo, a análise mostrou acertos em 79 % dos grupos formados. No total, apenas 17 dos 81 indivíduos foram classificados erroneamente nos três grupos, sendo esta análise mais eficaz na separação dos grupos, quando comparada com a primeira análise (Tabela 5). Este resultado pode ser explicado pela menor quantidade de grupos dados na segunda LDA, facilitando a discriminação.

Tabela 5 - Resumo dos grupos da segunda Análise Discriminante Linear. Colunas representam os grupos sugeridos e linhas representam os grupos dados.

	Escudo Brasileiro	Escudo Guiana	Planície	Total
Escudo Brasileiro	7	0	0	7
Escudo Guiana	2	9	3	14
Planície	8	4	48	60
Total	17	13	51	81

As variáveis que melhor explicaram esse agrupamento foram comprimento da tíbia (TB), comprimento do antebraço (CA) e largura da cabeça (LC) no eixo 1. Já no eixo 2, as variáveis mais explicativas foram comprimento da mão (CM), comprimento da coxa (CCX) e comprimento da cabeça (CC). Os valores encontrados nos eixos estão dispostos na tabela 6.

Tabela 6. Variáveis mais significativas na discriminação dos grupos na segunda LDA e seus respectivos valores no Eixo 1 e no Eixo 2.

	Eixo 1		Eixo 2
CTB	226,68	CM	-267,07
CA	152,35	CCX	-289,56
LC	142,24	CC	-368,48

Na figura 7 observa-se os agrupamentos formados pela segunda LDA, onde é possível perceber a distinção entre os grupos do Escudo das Guianas (vermelho) e do Escudo Brasileiro (amarelo), com apenas uma pequena área de sobreposição. A sobreposição se deve a apenas dois indivíduos do Escudo das Guianas, que morfometricamente poderiam ser agrupados ao grupo do Escudo Brasileiro, entretanto, essa sobreposição pode estar ligada a diferenças individuais dos espécimes, sem refletir necessariamente uma distinção do grupo.

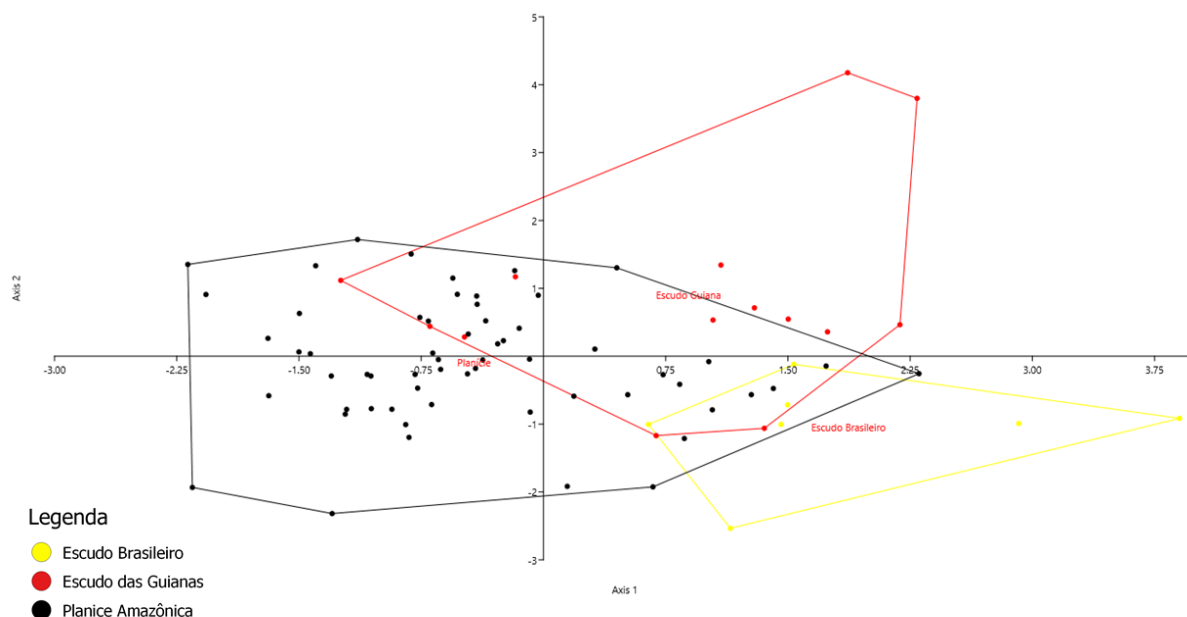


Figura 7 - Gráfico dos grupos formados pela segunda Análise Discriminante Linear.

Durante o período Neógeno, os Escudos das Guianas e o Brasileiro permaneceram estáveis em relação a mudanças no relevo, a maior mudança parece ter acontecido durante as flutuações climáticas do período Quaternário, que influenciaram diretamente na fauna local (FOUQUET *et al.* 2012). A geomorfologia dessas áreas da Amazônia parece estar ligada à diversificação de linhagens de anuros amazônicos. Recentemente, Réjaud *et al.* (2020) relatou o processo de diversificação do gênero de anuro *Allobates*, que ocorreu inicialmente no Escudo das Guianas a cerca de 25 Ma (RÉJAUD *et al.* 2020).

A região onde hoje encontra-se a planície amazônica, na Amazônia ocidental, já foi um grande pântano, chamado de Sistema Pebas, a origem desse sistema por volta de 8-23 Ma e forma de drenagem pode ter influenciado na diversificação de um grupo de anfíbios amazônicos bastante diverso, *Pristimantis* (WADDELL *et al.* 2018). Embora a idade de origem do clado *Osteocephalus* não seja datada, estudos futuros podem esclarecer a relação entre a geomorfologia do local e a diversificação da biota. Sabe-se que grandes eventos geomorfológicos como o próprio surgimento do Sistema Pebas e o soergimento da cadeia andina causaram uma rápida diversificação em muitos grupos taxonômicos, incluindo nos anfíbios (NOONAN e WRAY, 2006; CASTROVIEJO-FISHER *et al.* 2014; CECCARELLI *et al.* 2016; SANÍM *et al.* 2016; WADDELL *et al.* 2018).

4. CONCLUSÃO

Em *Osteocephalus taurinus* existe diversidade desconhecida, embora não tenhamos conseguido encontrar diferenças em escala mais fina, a nível de populações, fomos capazes de inferir diferenças quando comparados a nível biogeográfico. Para entender melhor a história evolutiva desse grupo cabem mais estudos, que levem em consideração não apenas caracteres morfométricos, mas características morfológicas em fina escala, além de trabalhos relacionados a ecologia e história de vida, e dados moleculares. De forma integrativa seremos capazes de reconhecer a verdadeira riqueza do grupo, e como isto tem implicações importantes para entendimentos de diversificação de espécies e biogeografia amazônica, além de utilidade crítica para o gerenciamento de conservação da biodiversidade e das paisagens em geral.

REFERÊNCIAS

- ALEIXO, A.L.P. Conceitos de espécie e suas implicações para a conservação. **Megadiversidade**, vol. 5, p. 87-95, 2009.
- BALAKRISHNAMA, S; GANAPATHIRAJU, A. Linear discriminant analysis-a brief tutorial. **Institute for Signal and information Processing**, v. 18, n. 1998, p. 1-8, 1998.
- BEHEREGARAY, L. B. Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. **Molecular Ecology**, vol. 17, n. 17, p. 3754-3774, 2008.
- BERNARDE, P. S. *et al.* A remarkable new species of coralsnake of the *Micrurus hemprichii* species group from the Brazilian Amazon. **Salamandra**, vol. 54, n. 4, p. 249-258, 2018.
- BICKFORD, D. *et al.* Cryptic species as a window on diversity and conservation. **Trends in Ecology and Evolution**, vol. 22, n. 3, p. 148-155, 2006.
- BLOTTO, B. L. *et al.* The phylogeny of the Casque-headed Treefrogs (Hylidae: Hylinae: Lophyohylini). **Cladistics**, p. 1–37, 2020a.
- BLOTTO, B. L. *et al.* Hand and foot musculature of Anura: structure, homology, terminology, and synapomorphies for major clades. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 443, n. 1, p. 1-156, 2020b.
- BUSH, M. B. Amazonian speciation: a necessarily complex model. **Journal of Biogeography**, vol. 21, n. 1, p. 5-17, 1994.
- CASTROVIEJO-FISHER, S. *et al.* Neotropical diversification seen through glassfrogs. **Journal of Biogeography**, v. 41, n. 1, p. 66-80, 2014.
- CECCARELLI, F. S. *et al.* Andean uplift drives diversification of the bothriurid scorpion genus *Brachistosternus*. **Journal of Biogeography**, v. 43, n. 10, p. 1942-1954, 2016.
- CRACRAFT, J. Historical biogeography and patterns of differentiation within the South American avifauna: areas of endemism. **Ornithological Monographs**, vol. 36, p. 49–84, 1985.

DA SILVA, J. M. C.; RYLANDS, A. B.; DA FONSECA, G. A. B. The fate of the Amazonian areas of endemism. **Conservation Biology**, v. 19, n. 3, p. 689-694, 2005.

DE LA RIVA, I.; MARQUEZ, R.; BOSCH, J. Advertisement calls of eight Bolivian hylids (Amphibia, Anura). **Journal of Herpetology**, vol. 29, p. 113–118, 1995.

DE QUEIROZ, K. Species concepts and species delimitation. **Systematic biology**, v. 56, n. 6, p. 879-886, 2007.

DUELLMAN, W. E. Quaternary climatic-ecological fluctuations in the lowland tropics: frogs and forests. Biological Diversification in the Tropics. **Columbia University Press**, New York, p. 389-402, 1982.

DUELLMAN, W. E. (Ed.). **Patterns of distribution of amphibians: a global perspective**. JHU Press, 1999.

ESTUPIÑÁN-TRISTANCHO, R. A. *et al.* Variação geográfica de *Osteocephalus taurinus* Steindachner, 1862 (Amphibia: Anura: Hylidae). 2001.

FABREZI, M. Morphological evolution of Ceratophryinae (Anura, Neobatrachia). **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, v. 44, n. 2, p. 153-166, 2006.

FOUQUET, A. *et al.* Underestimation of species richness in Neotropical frogs revealed by mtDNA analyses. **PLoS One** 10: art, e1109, 2007.

FOUQUET, A. *et al.* Multiple quaternary refugia in the eastern Guiana Shield revealed by comparative phylogeography of 12 frog species. **Systematic Biology**, v. 61, n. 3, p. 461, 2012.

FOUQUET, A. *et al.* Species delimitation, patterns of diversification and historical biogeography of the Neotropical frog genus *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae). **Journal of Biogeography**, v. 41, n. 5, p. 855-870, 2014.

FROST, D. R. 2022. Amphibian Species of the World: em Online Reference. Version 6.0 <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, EUA. Acesso em: 20/04/2022.

GEHARA, M. *et al.* From widespread to microendemic: molecular and acoustic analyses show that *Ischnocnema guentheri* (Amphibia: Brachycephalidae) is endemic to Rio de Janeiro, Brazil. **Conservation genetics**, v. 14, n. 5, p. 973-982, 2013.

GODINHO, M. B. C; DA SILVA, F. R. The influence of riverine barriers, climate, and topography on the biogeographic regionalization of Amazonian anurans. **Scientific Reports**, v. 8, n. 1, p. 1-11, 2018.

GONÇALVES, M. F. Análise de diversificação fenotípica de anuros neotropicais da Mata Atlântica brasileira. 2010.

HADDAD, C.F. B; PRADO, C. P. A. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. **BioScience**, v. 55, n. 3, p. 207-217, 2005.

HAFFER, J. Speciation in Amazonian forest birds. **Science**, 165: p.131-137, 1969.

HAMMER, O.; HARPER, D. A. T.; RYAN, P. D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. **Paleontologica Electronica** v. 4, n. 1. 2001.

HAUSDORF, B. Progress toward a general species concept. **Evolution**, vol. 65, n. 4, p. 923-931, 2011.

HEBERT, P. D. N *et al.* Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 101, n. 41, p. 14812-14817, 2004.

HOORN, C. *et al.* Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. **Science**, 330: p. 927-931, 2010.

IRWIN, D. E. *et al.* Speciation by distance in a ring species. **Science**, v. 307, n. 5708, p. 414-416, 2005.

JENKINS, C. N.; PIMM, S. L.; JOPPA, L. N. Global patterns of terrestrial vertebrate diversity and conservation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, vol. 110, n. 28, E2602-E2610, 2013.

JUNGFER, K. H. The taxonomic status of some spiny-backed treefrogs, genus *Osteocephalus* (Amphibia: Anura: Hylidae). **Zootaxa**, vol. 2407, p. 28–50, 2010.

- JUNGFER, K. H. *et al.* Systematics of spiny-backed treefrogs (Hylidae:*Osteocephalus*): an Amazonian puzzle. **Zoologica Scripta**, vol. 42, n.4, p. 351–380, 2013.
- KAEFER, I. L. *et al.* The early stages of speciation in Amazonian forest frogs: phenotypic conservatism despite strong genetic structure. **Evolutionary Biology**, v. 40, n. 2, p. 228-245, 2013.
- KOBAYASHI, S. *et al.* Fine-scale genetic structure and estimation of gene flow of the Japanese brown frog *Rana japonica* in a Satoyama landscape on the western side of Inba Lake, Eastern Japan. **Current herpetology**, v. 37, n. 1, p. 11-22, 2018.
- LAMPERT, K. P. *et al.* Fine-scale genetic pattern and evidence for sex-biased dispersal in the túngara frog, *Physalaemus pustulosus*. **Molecular Ecology**, v. 12, n. 12, p. 3325-3334, 2003.
- LIMA, A. P. *et al.* Guia de sapos da Reserva Adolpho Ducke, Amazônia Central. Manaus: Attema Design Editorial, 2006.
- LOUGHEED, S. C. *et al.* Multi-character perspectives on the evolution of intraspecific differentiation in a neotropical hylid frog. **BMC evolutionary biology**, v. 6, n. 1, p. 1-16, 2006.
- MÂNGIA, S.; KOROIVA, R.; SANTANA, D. J. A new tiny toad species of *Amazophrynella* (Anura: Bufonidae) from east of the Guiana Shield in Amazonia, Brazil. **PeerJ**, vol. 8, p. e9887, 2020.
- MARCELINO, V. R.; HADDAD, C. F. B; ALEXANDRINO, J. Geographic distribution and morphological variation of striped and nonstriped populations of the Brazilian Atlantic Forest treefrog *Hypsiboas bischoffi* (Anura: Hylidae). **Journal of Herpetology**, p. 351-361, 2009.
- MARCHESINI, A. *et al.* Fine-scale phylogeography of *Rana temporaria* (Anura: Ranidae) in a putative secondary contact zone in the southern Alps. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 122, n. 4, p. 824-837, 2017.
- MAYR, E. **Systematics and the origin of species: from the viewpoint of a zoologia**. 1942.

- MELO-SAMPAIO, P. R.; FERRÃO, M. ; DE LIMA MORAES, L. J. C. A new species of *Osteocephalus* Steindachner, 1862 (Anura: Hylidae), from Brazilian Amazonia. **Breviora**, v. 572, n. 1, p. 1-21, 2021.
- MÉNDEZ, M. A. *et al.* Morphological and genetic differentiation among Chilean populations of *Bufo spinulosus* (Anura: Bufonidae). **Revista Chilena de Historia Natural**, v. 77, p. 559-567, 2004.
- MORAES, L. J. *et al.* The combined influence of riverine barriers and flooding gradients on biogeographical patterns for amphibians and squamates in south-eastern Amazonia. **Journal of Biogeography**, vol. 43, n. 11, p. 2113-2124, 2016.
- MOTA, E. D. *et al.* Hidden diversity within the broadly distributed Amazonian giant monkey frog (*Phyllomedusa bicolor*: Phyllomedusidae). **Amphibia-Reptilia**, vol. 41, p. 349-359, 2020.
- NEWMAN, R. A.; SQUIRE, T. Microsatellite variation and fine-scale population structure in the wood frog (*Rana sylvatica*). **Molecular Ecology**, v. 10, n. 5, p. 1087-1100, 2001.
- NOONAN, B. P.; WRAY, K. P. Neotropical diversification: the effects of a complex history on diversity within the poison frog genus *Dendrobates*. **Journal of Biogeography**, v. 33, n. 6, p. 1007-1020, 2006.
- ORTIZ, D. A.; LIMA, A. P.; WERNECK, F. P. Environmental transition zone and rivers shape intraspecific population structure and genetic diversity of an Amazonian rain forest tree frog. **Evolutionary Ecology**, v. 32, n. 4, p. 359-378, 2018.
- PADIAL, J. M.; DE LA RIVA, I. Integrative taxonomy reveals cryptic Amazonian species of *Pristimantis* (Anura: Strabomantidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 155, n. 1, p. 97-122, 2009.
- PAVAN, S. E.; MENDES-OLIVEIRA, A. C.; VOSS, R. S. A new species of *Monodelphis* (Didelphimorphia: Didelphidae) from the Brazilian Amazon. **American Museum Novitates**, vol. 2017, n. 3872, p. 1-20, 2017.

RÉJAUD, A. *et al.* Historical biogeography identifies a possible role of Miocene wetlands in the diversification of the Amazonian rocket frogs (Aromobatidae: *Allobates*). **Journal of Biogeography**, v. 47, n. 11, p. 2472-2482, 2020.

RIBAS, C. C. *et al.* A palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past three million years. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, vol. 279, p.

RODRÍGUEZ, A. *et al.* Biogeographic origin and radiation of Cuban *Eleutherodactylus* frogs of the auriculatus species group, inferred from mitochondrial and nuclear gene sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 54, n. 1, p. 179-186, 2010.681–689, 2012.

SANÍN, M. J. *et al.* The Neogene rise of the tropical Andes facilitated diversification of wax palms (Ceroxylon: Arecaceae) through geographical colonization and climatic niche separation. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 182, n. 2, p. 303-317, 2016.

SANTANA, C. D. *et al.* Unexpected species diversity in electric eels with a description of the strongest living bioelectricity generator. **Nature Communication**, vol.10, n. 4000, 2019.

SEGALLA, M. V. *et al.* List of Brazilian amphibians. **Herpetologia Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 121-216, 2021.

SIQUEIRA, S. J. R. *et al.* Unusual intra-individual karyotypical variation and evidence of cryptic species in Amazonian populations of *Pristimantis* (Anura, Terrarana). **Hereditas**, vol. 146, p. 141-151, 2009.

STEINDACHNER, F. Uber zwei noch unbeschriebene Batrachier. **Arch. Zool. Anat. Fisiol.**, 2:77-82.

STURARO, M. J. *et al.* Resolving the taxonomic puzzle of *Boana cinerascens* (Spix, 1824), with resurrection of *Hyla granosa gracilis* Melin, 1941 (Anura: Hylidae). **Zootaxa**, v. 4750, n. 1, p. 1–30-1–30, 2020.

TRUEB, L.; DUELLMAN, W. E. A synopsis of Neotropical hylid frogs, genus *Osteocephalus*. **Occasional Papers of the Museum of Natural History**, The University of Kansas, vol. 1, p.1–48, 1971.

VACHER, J. P *et al.* Large-scale DNA-based survey of frogs in Amazonia suggests a vast underestimation of species richness and endemism. **Journal of Biogeography**, vol. 00, n.1, p. 1-11, 2020.

VANZOLINI, P. E., WILLIAMS, E. E. The vanishing refuge: a mechanism for ecogeographic speciation. **Papeis Avulsos de Zoologia**, vol. 34, p. 251-255, 1981.

VIEIRA, K. S. *et al.* An examination of morphometric variations in a Neotropical toad population (*Proceratophrys cristiceps*, Amphibia, Anura, Cycloramphidae). **PLoS one**, v. 3, n. 12, p. e3934, 2008.

WADDELL, E. H. *et al.* Hierarchies of evolutionary radiation in the world's most species rich vertebrate group, the Neotropical *Pristimantis* leaf litter frogs. **Systematics and Biodiversity**, v. 16, n. 8, p. 807-819, 2018.

WALLACE, A. On the monkeys of the Amazon. **Proceedings of the Zoological Society of London**, vol. 20: p. 107-110, 1852.

WANG, I. J.; CRAWFORD, A. J.; BERMINGHAM, E. Phylogeography of the Pygmy Rain Frog (*Pristimantis ridens*) across the lowland wet forests of isthmian Central America. **Molecular phylogenetics and evolution**, v. 47, n. 3, p. 992-1004, 2008.

WANG, X. *et al.* Hydroclimate changes across the Amazon lowlands over the past 45,000 years. **Nature**, v. 541, n. 7636, p. 204-207, 2017.

WATTERS, J. L. *et al.* Review of morphometric measurements used in anuran species descriptions and recommendations for a standardized approach. **Zootaxa**, v. 4072, n. 4, p. 477-495, 2016.

WELLS, K. D. The ecology and behavior of amphibians. In: **The Ecology and Behavior of Amphibians**. University of Chicago press, 2010.

WYNN, A.; HEYER, W. R. Do geographically widespread species of tropical amphibians exist? An estimate of genetic relatedness within the neotropical frog *Leptodactylus fuscus* (Schneider 1799) (Anura Leptodactylidae). **Tropical Zoology**, v. 14, n. 2, p. 255-285, 2001.

WOGEL, H., POMBAL JR., J. P. Comportamento reprodutivo e seleção sexual em *Dendropsophus bipunctatus* (Spix, 1824) (Anura, Hylidae). **Papéis Avulsos de Zoologia**, vol. 47, n.13, p. 165-174, 2007.

ZEISSET, I; BEEBEE, T. J. C. Amphibian phylogeography: a model for understanding historical aspects of species distributions. **Heredity**, v. 101, n. 2, p. 109-119, 2008.