



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE ANIMAL

**REVISÃO TAXONÔMICA DE *RHAEBO GUTTATUS* (SCHNEIDER, 1799) (ANURA:
BUFONIDAE)**

Maurivan Vaz Ribeiro

Orientador: Dr. Natan Medeiros Maciel

Co-orientador: Dr. Victor Goyannes Dill Orrico

Goiânia, Goiás

Março, 2019

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR
VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES
NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG**

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a Lei nº 9610/98, o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou *download*, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

1. Identificação do material bibliográfico: ☒ **Dissertação** ☐ **Tese**

2. Identificação da Tese ou Dissertação:

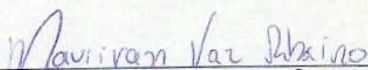
Nome completo do autor: Maurivan Vaz Ribeiro

Título do trabalho: REVISÃO TAXONÔMICA DE *RHAEBO GUTTATUS* (SCHNEIDER, 1799) (ANURA: BUFONIDAE)

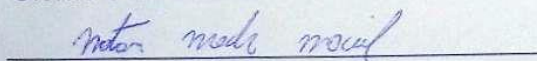
3. Informações de acesso ao documento:

Concorda com a liberação total do documento ☒ **SIM** ☐ **NÃO**¹

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do (s) arquivo (s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.


Assinatura do autor²

Ciente e de acordo:


Assinatura do orientador²

Data: 31/ 03/ 2019

¹ Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

² A assinatura deve ser escaneada.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE ANIMAL

**REVISÃO TAXONÔMICA DE *RHAEBO GUTTATUS* (SCHNEIDER, 1799) (ANURA:
BUFONIDAE)**

Maurivan Vaz Ribeiro

Orientador: Dr. Natan Medeiros Maciel

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Biodiversidade Animal.

Goiânia, Goiás

Março, 2019

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Vaz Ribeiro, Maurivan
REVISÃO TAXONÔMICA DE *RHAEBO GUTTATUS* (SCHNEIDER, 1799) (ANURA: BUFONIDAE) [manuscrito] / Maurivan Vaz Ribeiro, Victor Goyannes Dill Orrico, Natan Medeiros Maciel. - 2019.
ii, 77 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Natan Medeiros Maciel; co-orientador Dr. Victor Goyannes Dill Orrico.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, Goiânia, 2019.
Bibliografia. Apêndice.
Inclui lista de figuras, lista de tabelas.

1. Taxonomia Integrativa. 2. Distribuição Geográfica. 3. Bacias Hidrográficas. 4. Biogeografia. 5. Sobreposição de Nicho. I. Goyannes Dill Orrico, Victor . II. Medeiros Maciel, Natan. III. Medeiros Maciel, Natan, orient. IV. Goyannes Dill Orrico, Victor , co-orient. V. Título.



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS - UFG
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ICB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE ANIMAL

ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE Nº 26

Aos doze dias do mês de março de dois mil e dezenove (12/03/2019), às quatorze horas (14h), no Auditório do ICB V, Campus Samambaia - UFG, reuniram-se os componentes da banca examinadora: **Prof. Dr. Natan Medeiros Maciel, ICB/UFG; Profa. Dra. Kátia Alcione Kopp, EECA/UFG; Prof. Dr. Wilian Vaz-Silva, ICB/UFG;** para, em sessão pública presidida pelo(a) primeiro(a) examinador(a) citado(a), procederem à avaliação da defesa de dissertação intitulada: **"Revisão Taxonômica de *Rhaebo guttatus* (Schneider, 1799) (Anura: Bufonidae)"**, em nível de mestrado, área de concentração em Biodiversidade Animal, de autoria de **Maurivan Vaz Ribeiro**, discente do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal da Universidade Federal de Goiás. A sessão foi aberta pelo presidente, que fez a apresentação formal dos membros da banca. A palavra, a seguir, foi concedida à(o) autor(a) da dissertação que, em cerca de 35 minutos, procedeu à apresentação de seu trabalho. Terminada a apresentação, cada membro da banca arguiu à(o) examinada(o), tendo-se adotado o sistema de diálogo sequencial. Terminada a fase de arguição, procedeu-se à avaliação da dissertação. Tendo-se em vista o que consta na Resolução nº 1239 de 14 de fevereiro de 2014, do Conselho de Ensino, Pesquisa, Extensão e Cultura (CEPEC), que regulamenta o Programa de Pós-Graduação Biodiversidade Animal, a dissertação foi APROVADA, considerando-se integralmente cumprido este requisito para fins de obtenção do título de Mestre em Biodiversidade Animal pela Universidade Federal de Goiás. A conclusão do curso dar-se-á quando da entrega da versão definitiva da dissertação na secretaria do programa, com as devidas correções sugeridas pela banca examinadora, no

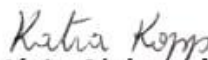
prazo de trinta dias a contar da data da defesa. Cumpridas as formalidades de pauta, às 15 h e 25 min., encerrou-se a sessão de defesa e, para constar, eu, Suely Ana Ribeiro, secretária executiva da Universidade Federal de Goiás - UFG, lavrei a presente ata que, após lida e aprovada, será assinada pelos membros da banca examinadora em três vias de igual teor.



Prof. Dr. Natan Medeiros Maciel

Presidente da Banca

ICB/UFG



Profa. Dra. Kátia Alcione Kopp

EECA/UFG



Prof. Dr. Wilian Vaz-Silva

ICB/UFG;

AGRADECIMENTOS

À

Minha família, por todo apoio durante minha formação,

Dr. Natan Medeiros Maciel, pela orientação, paciência e parceria desde 2012.

Dr. Victor Goyannes Dill Orrico pela co-orientação e pela confiança depositada durante a realização do trabalho.

Aos professores do Instituto de Ciências Biológicas.

Aos meus amigos e colegas do Laboratório de Herpetologia e Comportamento Animal – LabHerp, especialmente: Msc. Alejandro Valencia Zuleta e Dr^a Tatianne Piza Ferrari Abreu Jardim pelas sugestões e ajuda nas análises.

Aos Drs. Bruno Vilela, Matheus Lima-Ribeiro, Fabrício Villalobos e Mariana Lyra pelas sugestões no trabalho.

Dr^a. Daniella Pereira França, Dany Paiva e Marco Antônio Freitas pelas fotos enviadas.

A todos os curadores e assistentes das coleções visitadas no Brasil: Dr^a. Fernanda Werneck e Ariane Silva (INPA), Dr. Hussam Zaher (MZUSP), Dr. Guarino Colli (CHUNB), Dr^a. Ana Prudente (MPEG), Dr. José P. Pombal Jr. (MNRJ), Dr. Célio Fernando Baptista Haddad (CFBH-Unesp), Dr. Diego Meneghelli (UFROH) e Dr. Wilian Vaz-Silva (CEPB/PUC Goiás).

Aos curadores das coleções no exterior: Dr. Mark-Oliver Rödel (ZMB) e Dr^a. Annemarie Ohler (MNHNP).

Aos meus amigos Paulo Henrique Caetano, Ítalo Alexandrino Sena, André Teles e Leonardo Marques de Abreu por manterem minha sanidade em dia durante os períodos difíceis.

Aos membros da banca da qualificação e defesa Dr. Wilian Vaz-Silva e Dr^a Katia Kopp pelas sugestões e críticas no trabalho.

Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Animal da UFG.

Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e Programa de Capacitação em Taxonomia – PROTAX.

SUMÁRIO

CAPÍTULO ÚNICO	i
Abstract.....	1
Introdução	2
Métodos.....	6
Material-tipo analisado.....	6
Análises Moleculares.....	6
Análises Morfométricas.....	8
Sobreposição de Nicho climático	11
Resultados.....	12
Histórico taxonômico de <i>Rhaebo guttatus</i> (Schneider, 1799).....	12
Análise e Comparação dos Tipos.....	15
Análises Moleculares.....	16
Análises Morfométricas.....	18
Sobreposição de nicho climático	19
Redescrição de <i>Rhaebo guttatus</i>.....	20
Discussões	25
Agradecimentos.....	29
Tabelas	47
Lista de figuras.....	51
Apêndice I. Protocolo de extração de DNA.	70
Apêndice II. Lista de tecidos obtidos nas coleções e GenBank.	71
Apêndice III. Espécimes examinados.....	71
CONSIDERAÇÕES FINAIS	77

CAPÍTULO ÚNICO

(Estruturado de acordo com as normas do Periódico ZOOTAXA.

**REVISÃO TAXONÔMICA DE *RHAEBO GUTTATUS* (SCHNEIDER, 1799) (ANURA:
BUFONIDAE)**

Family names of the authors: RIBEIRO *ET AL.*

Running title: **REVISÃO TAXONÔMICA DE *RHAEBO GUTTATUS***

Number of plates: 16

Number of cited references: 145

High taxon: Amphibia, Anura, Bufonidae

Monographs

REVISÃO TAXONÔMICA DE *RHAEBO GUTTATUS* (SCHNEIDER, 1799) (ANURA: BUFONIDAE)

MAURIVAN VAZ RIBEIRO^{1,2}, ALEJANDRO VALENCIA–ZULETA^{2,3}, VICTOR
GOYANNES DILL ORRICO⁴, CELIO FERNANDO BAPTISTA HADDAD⁵, NATAN M.
MACIEL²

¹*Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Animal, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Cx. Postal 131, 74001-970 Goiânia, GO, Brazil. <maurivan.bio@gmail.com>*

²*Laboratório de Herpetologia e Comportamento Animal, Departamento de Ecologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Cx. Postal 131, 74001-970 Goiânia, GO, Brazil.*

³*Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Evolução, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Cx. Postal 131, 74001-970 Goiânia, GO, Brazil.*

⁴*Campus Soane Nazaré de Andrade, Rodovia Jorge Amado, Km 16, Bairro Salobrinho, CEP 45662-900. Ilhéus-Bahia*

⁵*Jacarezário, Departamento de Zoologia, I.B. UNESP-Rio Claro Av. 24A, N 1515 Bela Vista 13506-900 Rio Claro, SP*

Abstract

This work deals with the taxonomy of *Rhaebo guttatus*, a bufonid toad widely distributed in South America. We used both traditional (morphology and morphometry) and modern methodologies (molecular and *niche overlap*) in order to elucidate the complex taxonomy of the

species and define its taxonomic status in Brazil. We first conducted phylogenetic analyses of *R. guttatus* populations that occur within the Brazilian territory. In addition, we assessed 1040 specimens from museum collections. We obtained a total of twenty morphometric variables in order to investigate whether there was a differentiation between population from different watersheds. Phylogenetic analysis revealed populations from Tocantins-Araguaia (TA) watershed is a subclade of the populations from the Amazon basin (AM). We identified three genetic clusters which were spatially coherent with AM, TA and a contact zone between southern AM and TA. Individuals from AM populations are larger than individuals from TA basin. We found low niche overlap with temperature seasonality and precipitation influencing AM populations and temperature strongly influencing TA population. Sexual dimorphism is also present in *R. guttatus*. In conclusion, we redescribed *R. guttatus* based on the holotype but including Brazilian specimens.

Keywords: Integrative taxonomy, Geographic distribution, Biogeography, Hydrographic basin, *Niche overlap*.

Introdução

Os rios têm desempenhado um papel importante no estudo da diversificação de diversos táxons. Atuando como barreiras geográficas, os rios podem impedir o fluxo gênico entre as populações levando-as ao processo de especiação (Peres *et al.* 1996; Gascon *et al.* 1996; Oliveira *et al.* 2017; Maia *et al.* 2017; Godinho & Da Silva 2018). Embora outros estudos não tenham demonstrado esta relação, principalmente em anfíbios (Gascon *et al.* 1996, 1998; Gascon *et al.* 2000), sabe-se que diversos fatores como idade do rio (tempo de surgimento), largura, taxa de fluxo e dinâmica do canal podem ser determinantes quanto a sua eficácia como barreira limitante (Ayres & Clutton-Brock 1992; Leite & Rogers 2013).

Muitos estudos envolvendo revisão taxonômica e filogeografia têm demonstrado que espécies antes classificadas como únicas, na verdade representavam um grupo de espécies distintas (e.g. Baldissera Jr. *et al.* 2004; Faivovich *et al.* 2009; Caramaschi, 2010; Caramaschi & Cruz 2013; Cruz *et al.* 2008; Mueses-Cisneros 2007, 2008, 2012; Brandão *et al.* 2012; Sturaro e Peloso, 2014; Pimenta *et al.* 2014), tendo inclusive grandes rios atuando como barreira geográfica (Rojas *et al.* 2015; Maia *et al.* 2017).

Com o advento da taxonomia integrativa, que busca integrar diferentes abordagens para delimitação de espécies, a taxonomia vêm sendo reformulada (Padial *et al.* 2010). Considerando que a taxonomia baseada na morfologia tradicional não tem sido suficiente para o reconhecimento de espécies crípticas (Dayrat, 2005) e o fato da abordagem molecular ter sido bastante criticada por causar uma “inflação taxonômica” (Isaac *et al.* 2004), diversos pesquisadores têm adotado a abordagem integrativa em seus trabalhos através de dados morfológicos, moleculares e ecológicos para a descrição de novas espécies (e.g. Padial & De la Riva, 2009; Vaz-Silva & Maciel, 2011; Cardozo *et al.* 2018; Andrade *et al.* 2018; Vaz-Silva *et al.* 2018). Recentemente, o uso de modelagem de nicho ecológico juntamente com outras análises integradas (morfologia e genética) vêm cada vez mais sendo utilizado na delimitação de espécies (e.g. Rissler *et al.* 2007; Raxworthy *et al.* 2007; Morales *et al.* 2016).

A família Bufonidae é composta atualmente por 609 espécies e é uma das famílias de neobatrâquios com grande representatividade em todos os continentes, exceto na Antártica e Oceania, onde foi introduzido, sendo praticamente cosmopolita em sua distribuição (Pramuk, 2006; Frost 2019). Historicamente, os clados pertencentes a esta família tem sofrido uma série de mudanças taxonômicas. Por exemplo, *Bufo*, o maior gênero dentro de Bufonidae foi considerado

polifilético, integrando linhagens do velho e novo continente (Graybeal & Cannatella 1995; Frost *et al.* 2006; Pramuk 2006).

O gênero *Rhaebo*, um dos gêneros proposto por Frost *et al.* (2006) para agrupar as espécies de *Bufo* centro-sul-americanos, compreende atualmente 13 espécies: *R. andinophrynoides* Mueses-Cisneros, 2009; *R. atelopoides* (Lynch & Ruiz-Carranza, 1981); *R. blomeri* (Myers e Funkhouser, 1951); *R. caeruleostictus* (Gunther, 1859); *R. colomai* (Hoogmoed, 1985); *R. ecuadorensis* Mueses-Cisneros, Cisneros-Heredia e McDiarmid, 2012; *R. glaberrimus* (Gunther, 1869); *R. guttatus* (Schneider, 1799); *R. haematiticus* Cope, 1862; *R. hypomelas* (Boulenger, 1913); *R. lynchi* Mueses-Cisneros, 2007; *R. nasicus* (Werner, 1903) e *R. olallai* (Hoogmoed, 1985) (Frost, 2019). Este gênero está distribuído exclusivamente na região equatorial, desde Honduras até o Brasil e a Bolívia, passando pela Colômbia, Equador, Venezuela, Guianas, Suriname e Peru (Pramuk, 2006; Frost, 2019). Dentro do gênero é reconhecido somente um agrupamento sob o nome *Rhaebo guttatus* (Cei 1968; Blair 1972; Pramuk 2006; Chaparro *et al.* 2007).

O grupo *R. guttatus* é caracterizado por apresentar: (1) frontoparietais largos, fundidos aos proóticos; (2) canal occipital completamente coberto; (3) exostose dos ossos dermais frágeis; (4) crista supraorbital, cantal e parietais presentes, baixas e lisas; (5) pele no dorso liso ou com pequenos tubérculos dispersos; (6) série lateral de tubérculos largos ausentes; (7) glândulas parotóides médias, ovóides ou alongadas; (8) tímpano visível; (9) focinho arredondado em vista dorsal e truncado em perfil; (10) primeiro dedo da mão maior que o segundo (Duellman & Schulte, 1992). Outra característica reportada por Duellman & Schulte (1992) e por Pramuk (2006) é a presença do *omosternum* bem desenvolvido, característica que o diferencia do gênero

Bufo. Pramuk (2006) define duas sinapomorfias osteológicas para as espécies do grupo *Bufo guttatus*: (1) esfenóide distintamente largo e (2) processo anterior do proótico proeminente.

Rhaebo guttatus (Schneider, 1799) é um bufonídeo sul-americano de porte médio a grande com ampla distribuição no continente, principalmente na região amazônica (Barrio-Amorós *et al.* 2001; Bustamante *et al.* 2005; Mueses-Cisneros *et al.* 2012). No Brasil, sua distribuição é conhecida desde a Amazônia até a região Centro-Oeste, principalmente nos estados do Amazonas, Acre, Pará, Mato Grosso, Maranhão, Tocantins e Goiás (Azevedo-Ramos *et al.* 2010). A espécie é reconhecida pela presença de uma crista preocular bem evidente, e quando manipulados, secretam uma substância amarelada pela glândula parotóide enquanto que outras espécies pertencentes a família Bufonidae produzem uma substância esbranquiçada (Lötters *et al.* 2000; Frost *et al.* 2006; Mueses-Cisneros *et al.* 2012).

Apesar dos esforços de alguns autores (e.g Mueses-Cisneros 2008; Ron *et al.* 2015) em compreender a sistemática do grupo, a mesma ainda é pouco compreendida sugerindo que atribuído ao nome *Rhaebo guttatus* há um complexo de espécies (Azevedo-Ramos *et al.* 2010; Mueses-Cisneros 2008; Mueses-Cisneros *et al.* 2012). Até o momento, nenhum estudo buscou revisar taxonomicamente as populações ocorrentes em território brasileiro e a maioria dos estudos publicados dizem respeito apenas às populações ocorrentes em outros países como Venezuela, Equador, Bolívia, Colômbia e Suriname (De la Riva *et al.* 2000; Barrio-Amorós *et al.* 2001; Bustamante *et al.* 2005; Duellman 2005; Barrio-Amorós & Castroviejo-Fisher 2008; Frost, 2019).

Dessa forma, através de uma abordagem integrativa, apresentamos uma revisão taxonômica de *R. guttatus* buscando observar: (i) o histórico nomenclatural sobre o nome; (ii) a variação morfométrica, morfológica e ecológica entre as populações das bacias Amazônica e

Tocantins-Araguaia; (iii) a diversidade e estrutura genética entre as populações das duas bacias; (iv) a distribuição geográfica da espécie em território brasileiro e quais fatores são limitantes para sua distribuição. Adicionalmente, realizamos uma redescrição de *R. guttatus* com base na avaliação do holótipo e indivíduos ocorrentes em território brasileiro. Estas informações podem contribuir para o conhecimento da taxonomia de *Rhaebo guttatus* e podem subsidiar futuros estudos de sistemática, ecologia e conservação da espécie, definindo a posição taxonômica das populações referidas a esta espécie no Brasil.

Métodos

Material-tipo analisado

Nomes associados com *Rhaebo guttatus* (ver Frost 2019), tanto os válidos como em sinonímia foram analisados diretamente ou através de fotografias em vista dorsal, lateral e ventral do corpo enviadas pelos curadores das coleções estrangeiras. No total foram revisados três nomes: *Rhaebo guttatus* – o nome válido atualmente – (Holótipo – ZMB 3517), tombado no Museum für Naturkunde, Berlim, Alemanha; *Bufo leschenautii* (Holótipo – MNHNP 801), depositado no Museum National d’Histoire Naturelle em Paris, França e *Bufo crucifer* var *pfrimeri* (Holótipo – MNRJ 375) depositado na coleção do Museu Nacional do Rio de Janeiro, Brasil. Para as decisões e comentários na taxonomia de *R. guttatus*, bem como suas sinonímias foi utilizado como referência o Código de Nomenclatura Zoológica (ICZN, 1999).

Análises Moleculares

Tecidos de 63 indivíduos de *R. guttatus* (fragmentos de fígado) foram obtidos de diferentes coleções (Apêndice I) e divididos geograficamente entre bacia Amazônica (AM) e bacia Tocantins-Araguaia (TA). O DNA genômico foi extraído através do método de precipitação com

acetato de amônia de acordo com protocolo proposto por Lyra *et al.* (2017) (ver Apêndice I para materiais utilizados e procedimentos adotados).

Subsequentemente foram amplificadas uma região mitocondrial (16S) com os *primers* 16Sa-L e 16Sb-H (Kessing *et al.* 1989) e uma nuclear (Tensina 3) com o *primer* WL. A técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foi realizada conforme proposto por Lyra *et al.* (2017) que consiste em uma etapa inicial de desnaturação a temperatura inicial por 20s a 95 °C, anelamento por 20s a 50°C, 35 ciclos de desnaturação por 20s a 95°C, anelamento por 20s a 50 °C e extensão por 1 min a 72°C, uma etapa final de extensão de 72°C por 5 minutos. O produto da PCR foi purificado utilizando a enzima Taq DNA polymerase 9 (Thermo Scientific Inc.). Os dados de extração e purificação foram enviados para a MacroGen INC na Coreia do Sul, onde as sequências foram geradas. O trabalho laboratorial foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP em Rio Claro-SP. Os alinhamentos das sequências obtidas mais cinco para a região 16S disponíveis no GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>) foram realizados através do software MEGA 7 (Kumar *et al.* 2016), conferidos e editados manualmente. Um resumo dos registros das amostras, incluindo dados geográficos, localização, número do tombo e GenBank estão disponíveis como material suplementar (Apêndice II). A árvore de inferência bayesiana foi realizada através do software BEAST (Drummond & Rambaut 2012).

Buscando analisar a diversidade genética entre as populações das bacias Amazônica e Tocantins-Araguaia, foi estimada através do software ARLEQUIN 3.11 (Excoffier *et al.* 2005) a diversidade de nucleotídeos. Em seguida, no mesmo software, foi realizado uma análise de variância molecular (AMOVA) buscando testar a hipótese de diferenciação genética populacional entre as bacias. O software BAPS (*Bayesian Analysis of Genetic Population*

Structure) (Corander *et al.* 2013), foi utilizado para inferir a estrutura genética das populações. Para a matriz de distância genética, usamos a diferenciação genética pareada (F_{ST} linearizado de Slatkin). Já a influência da distância geográfica na estruturação genética das populações foi testada através do teste de Mantel (Legendre & Legendre 2012; Diniz-Filho *et al.* 2013; Borcard *et al.* 2018) utilizando o pacote “ade4” (Dray *et al.* 2007) no *software* R (R Core Team 2016).

Análises Morfométricas

Espécimes analisados. — Foram examinados 1.044 indivíduos (770 jovens e 274 adultos) de populações de *R. guttatus* ao longo de sua distribuição depositados nas coleções do Museu Nacional do Rio de Janeiro (MNRJ), Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Museu Emílio Goeldi (MPEG), Coleção Herpetológica da Universidade Federal de Goiás (ZUFG), Coleção Herpetológica da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (CEPB), Coleção Herpetológica da Universidade de Brasília (CHUNB) e Coleção de Referência da Herpetofauna de Rondônia (UFRO-HEP) (para lista completa ver Apêndice III). O sexo foi avaliado através da presença de fendas vocais (*vocal slits*) nos machos e através da análise das gônadas.

Morfologia. — Os caracteres analisados em cada indivíduo no intuito de se estabelecer uma diagnose clara da espécie foram: formato da cabeça em vista dorsal e lateral; formato da narina; padrão de coloração dorsal e ventral; presença ou ausência de crista preocular; padrão de coloração dos flancos; formato da glândula parotóide; textura da pele. A descrição da osteologia cranial de um exemplar examinado no MZUSP (MZUSP 21112) e coletado em Barra do Corda, município do estado do Maranhão foi realizada seguindo Pramuk (2006), Martin (1972) e

Mueses-Cisneros *et al.* (2012). Já a fórmula plantar seguiu o proposto por Savage & Heyer (1967, 1997) e Myers & Duellman (1982).

Medidas.— Vinte variáveis morfométricas segundo Watters *et al.* (2016) e Valencia-Zuleta (2017) foram obtidas com paquímetro digital Mitutoyo (precisão 0,01mm): comprimento rostro-cloacal (CRC) – Distância direta da linha da ponta do focinho para a margem posterior da cloaca; comprimento da cabeça (CC) – Da parte posterior dos maxilares até a ponta do focinho; largura da cabeça (LC) – Entre as partes posteriores do tímpano em vista dorsal; altura da cabeça (AC) – Verticalmente em vista lateral, da parte posterior da mandíbula até a parte anterior da glândula parotóide; diâmetro do olho (DO) – Horizontalmente do canto anterior ao posterior do olho; distância olho-narina (DON) – Do canto anterior do olho para a margem posterior da narina; distância interorbital (DIO) – A distância mais curta entre os cantos anteriores das órbitas; distância internasal (DIN) – Distância mais curta entre as margens internas das narinas; distância narina-focinho (DNF) – Distância do centro da narina externa para a ponta do focinho; diâmetro do tímpano (DT) – A maior largura horizontal do tímpano; comprimento da coxa (CCX) – Distância da cloaca até a articulação femurtibial; comprimento da tíbia (CTB) – Distância da superfície externa da articulação femurtibial até a articulação tibiofibular; comprimento do pé (CP) – Da base do tubérculo metatarsal interno até a ponta da falange do quarto artelho; comprimento do tarso (CT) – Da articulação tibiotarsal à base do tubérculo metatársico interno; comprimento do antebraço (CAB) – Da articulação úmero-radioulnar flexionado à base do tubérculo palmar externo; comprimento do braço (CB) – Da articulação úmero-radioulnar à região posterior da escápula; comprimento da mão (CM) – Da base do tubérculo palmar externo à ponta da falange do terceiro artelho; largura da glândula parotóide (LGP) – Distância

perpendicular da borda interna a borda exterior da parotóide; comprimento da glândula parotóide (CGP) – Distância perpendicular da borda interna a borda exterior da parotóide; distância interparotóide (DIP) – Distância entre a parte interna da glândula esquerda com a parte interna da glândula direita (Figura 1).

Análises estatísticas.— Assumindo que grandes rios podem atuar como barreiras geográficas para distribuição da espécie, consideramos os conjuntos de dados separados entre Bacias Amazônia (AM) e Tocantins-Araguaia (AT) de acordo com classificação da Agência Nacional de Águas – ANA. As análises foram realizadas separando-se machos e fêmeas, sendo fundamental e comumente empregado em estudos de variação geográfica (Marcelino *et al.* 2009; Cassini *et al.* 2010) e seguindo as recomendações de Hayek *et al.* (2001) para estudos utilizando morfometria de anfíbios. Os indivíduos jovens não foram incluídos nas análises, já que possuem alta plasticidade fenotípica, podendo confundir o pesquisador quanto a sua variação (Heyer, 2005).

Prévio às análises, realizou-se uma análise descritiva incluindo média, desvio-padrão e intervalo de confiança. As análises foram realizadas com base nos dados brutos conforme recomendado por Hayek *et al.* (2001). Para resumir as diferenças morfométricas entre os conjuntos, foi realizada uma Análise Discriminante Linear (LDA) através da função “*lda*” do pacote MASS (Venables & Ripley 2002). Esta análise foi integrada com uma seleção de variáveis passo a passo, que começa com as mais diferentes morfometricamente usando o critério lambda de Wilk (função *greedy.wilks*, no pacote *klaR*: Weihs *et al.* 2005) com nível padrão para a decisão do teste F. Os dois primeiros coeficientes da análise discriminante foram projetados, permitindo a diferenciação visual dos grupos por bacias hidrográficas.

Gráficos boxplot foram construídos com as variáveis que mais influenciaram a LDA e o teste Wilcoxon-Mann-Whitney foi realizado com as variáveis indicadas pela LDA para observarmos se há diferenças entre as machos e fêmeas das bacias Amazônica e Tocantins-Araguaia e se estas são significativas. O mesmo teste foi realizado para observarmos diferenças quanto ao dimorfismo sexual pelo tamanho e para comparar se há diferenças significativas entre as duas populações (AM e TA) quanto ao CRC. Todas as análises estatísticas foram realizadas através do *software* R (R Core Team 2016).

Sobreposição de Nicho climático

Para analisar a sobreposição de nicho (*Niche Overlap*), que mostra a intersecção entre dois nichos em um espaço ambiental (Guisan *et al.* 2014), foram usadas as coordenadas geográficas dos espécimes validados nas coleções científicas, excluindo assim, erros atribuídos às identificações. Aqueles registros que não continham coordenadas geográficas mas continham a localidade (cidade ou município) foram obtidos através do software Google Earth (Google Inc 2015). Dessa forma, após filtragem dos dados duplicados, obtivemos o registro de 209 pontos de ocorrência da espécie sendo 185 registros da Bacia Amazônica e 24 da Bacia Tocantins-Araguaia.

Uma Análise de Componentes Principais (PCA-env) foi realizada para observarmos quais variáveis climáticas são mais importantes na distribuição da espécie. Portanto, se a sobreposição é significativamente baixa, considera-se que ambas populações analisadas ocupam segmentos distintos do espaço ambiental (Silva *et al.* 2014).

Esta análise foi realizada baseada no nicho climático da espécie através dos dados climáticos georreferenciados disponíveis no WorldClim (<http://www.worldclim.org>) através do

pacote “ecospat” (Broenniman *et al.* 2018), no *software* R (R Core Team 2016) conforme Silva *et al.* (2016). Através desse método é gerado uma análise de similaridade de nicho (*Niche similarity*).

A análise de sobreposição de nicho é interpretada por medidas de similaridade (neste caso, Medida D de Schoener) (Warren *et al.* 2008; Broennimann *et al.* 2012) que pode variar de 0 (sem sobreposição) a 1 (completa sobreposição), representando um gradiente de dissimilaridade completo para nichos totalmente sobrepostos (Broenniman *et al.* 2012; Guisan *et al.* 2014; Silva *et al.* 2016; Morales *et al.* 2016). Já a similaridade do nicho avalia a chance de que o valor de D observado seja significativamente maior (mais semelhante) ou menor (menos semelhante) do que o esperado pela estrutura ambiental e ocorrência das duas populações comparadas (Broennimann *et al.* 2012).

Além dos testes de sobreposição (*Niche overlap*) e similaridade (*Niche similarity*), é gerado também o teste de estabilidade do nicho (*Niche stability*) que mostra a tendência para um táxon manter seus requisitos de nicho ao longo do tempo (Guisan *et al.* 2014) e expansão do nicho (*Niche expansion*), que mostra a proporção em que o nicho de uma população não sobrepõe a outra (Broenniman *et al.* 2012; Guisan *et al.* 2014; Silva *et al.* 2016).

Resultados

Histórico taxonômico de *Rhaebo guttatus* (Schneider, 1799)

Bufo guttatus, o nome válido e mais antigo, foi descrito por Schneider (1799) em seu livro “*Hiftoriae Amphibioru naturalis et literariae*” (pág. 219) baseado em uma fêmea adulta, inicialmente depositado no “*Musei Blochiani*”, atualmente presente no “*Museum für Naturkunde*” de Berlim (ZMB). O espécime que corresponde ao tombo ZMB 315 é o holótipo

por implicação, já que foi o único indivíduo a integrar a série-tipo (Figura 2). A descrição original é bastante superficial, não informa o número de tombo, apresenta poucas características diagnósticas para a espécie e não apresenta qualquer ilustração do holótipo, algo bem incomum para a época, uma vez que a maioria das descrições continham ilustrações científicas. A informação referente ao número de tombo do holótipo é apresentada apenas por Peters (1863, pág. 81), ao informar a comparação realizada pelo Wiegmann (1833) entre *Bufo leschenautii* e o *Bufo guttatus*. A localidade-tipo estava indicada como “Índia Orientali” na descrição original, mas Rivero (1961) indicou sua localidade-tipo para o Suriname.

A designação “Índia Orientali” era comumente utilizada por europeus para designar rotas de comércio na época, onde atualmente é o sul da Ásia e norte da Oceania e ainda que o autor informe a imprecisão da localidade, sua análise se baseou a comparação de *B. guttatus* com *B. glaberrimus* (Gunther, 1869), indicando que ambas espécies eram parecidas morfologicamente, e por isso, possivelmente coespecíficas. Subsequentemente, Rivero (1961) detalhou a diagnose da espécie, melhorando de forma razoável sua taxonomia.

Após sua coleta o material poderia ter sido enviado junto com lotes de peixes de vários lugares do mundo, pelo médico e naturalista Marcus Elieser Bloch (1723-1799), segundo o sugerido por Rivero (1961). Bloch afirmava ter recebido lotes de peixes de um missionário do sudoeste da Índia, mais precisamente da região de Tranquebar, Costa do Malabar e possivelmente, devido a dificuldades na triagem de todo o material (Paepke 1999), acabou indicando erroneamente a localidade-tipo de *B. guttatus*. Schneider e Bloch eram compatriotas e responsáveis por diversos trabalhos importantes, como o “*Systema Ichthyologiae iconibus cx illustratum*” (Bloch & Schneider 1801). Portanto, é possível que Bloch tenha cedido diversas espécies (inclusive *B. guttatus*) para Schneider, que o descreveu junto com outras espécies de

anfíbios em seu livro. Outra hipótese mais provável é que condiz com a atual designação da localidade-tipo de *R. guttatus* é que o holótipo tenha sido coletado realmente no Suriname, uma vez que diversas espécies de peixes descritas por Bloch foram provenientes dessa localidade e coletados por Hirsch, seu ajudante responsável por acompanhar o governador em uma expedição científica ao distrito de Paramaribo no Suriname (Paepke 1999).

Bufo leschenautii, um dos sinônimos de *R. guttatus*, foi descrito por Tschudi (1893, pág. 89) baseado em um indivíduo jovem no livro “*Classification der Batrachier mit Berücksichtigung der fossilen Thiere dieser Abtheilung der Reptilien*” sem apresentar qualquer caracter diagnóstico ou ilustração da espécie, além de indicar incerteza quanto a sua localidade-tipo, designada como Índia. O nome atribuído a espécie foi considerado *Nomen nudum* por Bibron provavelmente devido a incerteza sobre o holótipo que era considerado desconhecido (Frost 2019). O holótipo foi encontrado por Guibé (1950 “1948”) no National d’Histoire Naturelle em Paris, França tombado sob o número MNHNP 801, corrigindo sua localidade-tipo para Guyana. Devido ao nome da espécie ter sido anulado, Duméril & Bibron (1841) atribuíram o nome *Bufo leschenautii* ao holótipo encontrado em Paris (Fig. 2). Peters (1863) então, ao comparar a espécie com o holótipo de *B. guttatus*, acabou sinonimizando-a.

Fitzinger (1843) designou o *Bufo guttatus* como espécie tipo para o gênero *Phrynomorphus*, mesmo tendo sido um gênero que estava atribuído à Classe Insecta por Curtis (1831). O gênero atribuído por Curtis (1831), por ter sido descrito antes que Fitzinger, teve precedência (art. 23, principio de prioridade: ICZN 1999). Posteriormente, Cope (1862) ao descrever *Rhaebo haematiticus* e designá-la como espécie-tipo para o gênero *Rhaebo* sugeriu a transferência de *Phrynomorphus leschenauti* para o gênero *Rhaebo* baseado em características

morfológicas similares. Em 1865, Cope confirmou a sinonímia entre *Rhaebo leschenautii* e *Rhaebo guttatus*.

Outro sinônimo associado com *Rhaebo guttatus* foi proposto por Melin (1941), que descreveu o *Bufo anderssoni*. Esse nome foi baseado em um indivíduo coletado no rio Auapés, Brasil e tombado atualmente no Naturhistoriska Museet na Suécia sob o número NHMG 06. Subsequentemente, Anderson (1945) propôs mudar o nome da espécie para o *Bufo melini*, considerando que o nome estava indisponível por já ter sido utilizado como sinonímia para *Bufo stomaticus* Lutken, 1864 “1863” por Boulenger (1883). Dessa forma, o nome *Bufo anderssoni* foi alocado ao gênero *Rhaebo* por Frost *et al.* (2006) e sinonimizado a *Rhaebo guttatus* por Barrio-Amorós & Castroviejo-Fisher (2008).

Miranda-Ribeiro descreveu em 1926, *Bufo crucifer* var. *pfrimeri* (Figura 3) no seu trabalho “Notas para servirem ao estudo dos Gymnobatrachios (Anura) Brasileiros”. No entanto, informações sobre o holótipo e a localidade-tipo como Poço do Rodrigues, Rio da Bagagem, Goiás (afluente do Rio Maranhão) só foram ser conhecidos anos mais tarde, em uma homenagem póstuma a Alípio de Miranda-Ribeiro no trabalho de Miranda-Ribeiro (1955). Mais tarde, Bokermann (1966) confirmou a localidade-tipo em seu trabalho onde apresentou uma lista das localidades-tipo de vários anfíbios brasileiros acabando por considerar a espécie como sinônimo de *Rhaebo guttatus*. No entanto, por não se tratar de um trabalho taxonômico, a sinonímia entre as duas espécies foi confirmada apenas no trabalho de Baldissera *et al.* (2004) ao revisar as espécies do grupo de *Rhinella crucifer*.

Análise e Comparação dos Tipos

Bufo guttatus (Figura 4) - Fêmea adulta em bom estado de preservação considerando se tratar de um indivíduo coletado no final do século XVIII, sem manchas abrasivas na cabeça ou no corpo e o ventre não apresenta incisões ou cortes. Apresenta maior tamanho corporal (CRC=106.08mm) em comparação com os outros tipos em sinonímia.

Bufo leschenautii (Figura 5) se trata de um indivíduo macho (CRC=75mm) e apresenta boas condições corporais, apesar de apresentar marcas abrasivas na cabeça e incisões lateral e ventral. O ventre apresenta aspecto escurecido parecido com queimadura.

Bufo crucifer var. *pfrimeri* (Figura 6) indivíduo macho (CRC=77.85mm), coletado na localidade designada como Poço do Rodrigues, rio da Bagagem, afluente do rio Maranhão, possivelmente no município de Niquelândia, no lago de Serra da Mesa, Estado de Goiás. O indivíduo apresenta em geral, boa condição corporal com algumas marcas abrasivas na região da cabeça e com tecido da pele da região ventral e lateral bem mole. Apesar de não ter sido possível observar fotografias de *Rhaebo anderssoni*, alguns dados morfométricos foram medidos por Bárrio-Amorós & Castroviejo-Fisher (2008), permitindo assim observar se tratar de um indivíduo jovem (CRC=48.59) e aparentemente em bom estado de preservação (com base na única fotografia disponível no trabalho dos autores). A Tabela 1 apresenta as variáveis morfométricas obtidas durante este trabalho e a disponível na literatura para *Rhaebo anderssoni*.

Análises Moleculares

A árvore por inferência Bayesiana de *R. guttatus* considerando a região mitocondrial 16S mostra a separação em um único clado (Amazônico) e um subclado (Tocantins-Araguaia) (Figura 7). O clado Bacia Amazônica (em vermelho) possui a maioria dos indivíduos localizados ao norte e sul do rio Amazonas, enquanto o subclado Bacia Tocantins-Araguaia (em azul) representa os

indivíduos localizados nos limites entre as duas bacias e na chamada Amazônia Maranhense, no Estado do Maranhão.

A Análise Bayesiana de Estrutura de População (BAPS) evidenciou três agrupamentos (*Clusters*). Conforme mostra a Figura 8, é possível observar o agrupamento das populações da bacia Amazônica (*cluster* vermelho) e Tocantins-Araguaia (*cluster* verde) e outro agrupamento que condiz com as áreas de transição entre as duas bacias (*cluster* azul). O *cluster* vermelho foi o que agrupou um maior número de localidades e alguns indivíduos se agruparam em mais de um *cluster* como as populações de Pium-TO (PTO) que se agrupou nos *clusters* vermelho e azul, Itaituba-PA (IPA) nos *clusters* verde e azul e Porto Velho-RO (PRO) nos *clusters* vermelho e azul.

O gene nuclear (Tensina 3) apresentou diferença apenas em um nucleotídeo na população de Comodoro – MT (CMT) dentre todas as amostras. Desta forma, como não apresentou variação não pode ser usado.

A AMOVA mostrou uma forte estruturação genética, sendo 70% da variação dos dados provenientes das diferenças genéticas entre os grupos (bacias Amazônica e Tocantins-Araguaia), 15% das diferenças genéticas entre as populações dentro dos grupos e 15% dentro das populações. O valor do índice F_{st} foram elevados ($F_{st} = 0,849$; valor referente a comparação par-a-par entre as populações Amazônicas e Tocantins-Araguaia; $p < 0.01$), indicando pouco fluxo gênico (Tabela 2). Apesar de apenas 6% ($r_m = 0,266$; $P < 0.01$ com 10000 permutações) da divergência genética ser explicada pela distância geográfica, o teste de Mantel mostrou que a divergência genética e a distância geográfica estão espacialmente autocorrelacionadas (Figura 9A). O correlograma de Mantel (Figura 9B), mostra que houve uma autocorrelação positiva e significativa em pequenas distâncias (< 300 km) e autocorrelação espacial negativa e

significativa em maiores distâncias (em torno de 700 km e >1.800 km). Dessa forma, as populações localizadas até 300 km apresentaram elevada similaridade entre elas, enquanto que as populações em distâncias de aproximadamente 700 km e 1.800 km apresentaram elevada dissimilaridade.

Análises Morfométricas

Os grupos analisados (bacias Amazônica - AM e Tocantins-Araguaia - TA) apresentaram médias das variáveis morfométricas similares. Quanto ao tamanho corporal (CRC), foi encontrado dimorfismo sexual, indicando para todos os grupos, fêmeas maiores que os machos (Tabela 3), corroborado pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney. O teste indicou que as fêmeas são significativamente maiores tanto na bacia Amazônica (Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney, $W=3002$, $p<0.01$), quanto bacia Tocantins-Araguaia (Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney, $W=532$, $p<0.01$). Além disso, o teste mostrou que as populações amazônicas são significativamente maiores que as populações situadas na bacia Tocantins-Araguaia (Teste de Wilcoxon-Mann-Whitney, $W=29137$, $p<0.01$).

O LDA considerando tanto os machos quanto as fêmeas, separados por bacias representou 100% da variância (Figura 10). Considerando apenas os machos, o LDA apresentou valores altamente positivos para CGP e CC e altamente negativos para DIO e DIN (ver Tabela 3). Já considerando as fêmeas, o LDA apresentou valores altamente negativos para CAB e DON e valores altamente positivos para CGP e LGP. As variáveis mais importantes nas separações dos grupos (AM e TA) foram CC, CGP, CT, CTB, DIN e DIO para machos e CAB, CGP, DON, e LGP para fêmeas (Figura 11; Tabela 4).

Considerando apenas indivíduos machos divididos entre as bacias Amazônica e Tocantins-Araguaia, foram encontradas diferenças significativas quanto as variáveis CT (Teste de Mann-Whitney, $W=7118$, $p<0.01$), CTB (Teste de Mann-Whitney, $W=6913$, $p<0.01$), DIO (Teste de Mann-Whitney, $W=6732$, $p=0.01$) e DIN (Teste de Mann-Whitney, $W=6767$, $p=0.01$), enquanto as variáveis CGP e CC não foram encontradas diferenças significativas. Já as as diferenças para as fêmeas foram significativas apenas quanto a variável CAB (Teste de Mann-Whitney, $W=2603$, $p<0.01$) enquanto as variáveis CGP, DON e LGP não apresentaram diferenças significativas (ver Tabela 5).

Sobreposição de nicho climático

Os dois eixos da PCA gerada explicaram 69,9% da variação ambiental (47,09% para o primeiro eixo e 22,83% para o segundo eixo) (Figura 12 A-B). O eixo PC1 claramente está relacionado à temperatura, enquanto o eixo PC2 à sazonalidade de temperatura e precipitação. As variáveis mais importantes de acordo com o gráfico gerado foram a temperatura média anual (Bio 1), Temperatura média do trimestre mais quente (Bio 10), Temperatura mais quente do trimestre mais frio (Bio 11), Temperatura média do trimestre mais chuvoso (Bio 8) e Temperatura média do trimestre mais seco (Bio 9) (Figura 12 C).

Uma baixa sobreposição de nicho (*Niche overlap*) foi detectada entre os grupos AM e TA ($D\text{-valor}=0.295$). Apesar da sobreposição ter sido baixa, ao realizar o teste de similaridade de nicho (*Niche similarity*), se percebe que as diferenças observadas no uso do ambiente são causadas principalmente pelas diferentes condições disponíveis ($p>0.05$, Tabela 6) e provavelmente isso se dá pelas condições ambientais específicas de cada bioma onde a espécie está distribuída (Amazônia e Cerrado) (Figura 13 A-C).

A estabilidade do nicho (*Niche stability*) foi alta em geral (AM-TA=0.82 e TA-AM=0.496), mostrando estruturação dos nichos ocupados pela espécie nos Biomas em que ocorre (ver Tabela 6).

Redescrição de *Rhaebo guttatus*. –

***Rhaebo guttatus* (Schneider, 1799)**

Fig. 4; 15; Tabela 1

Bufo guttatus – Schneider, 1799: p. 218; Peters, 1873: p. 81; Rivero, 1961: p. 21. loc. tipo “Índia Orientali”.

Bufo leschenaultii – Duméril and Bribon, 1841: p. 662; Guibé, 1950 “1948”: p. 13. *Nomen nudum*. loc. tipo “Guiane”.

Bufo crucifer var. *pfrimeri* – Miranda-Ribeiro, 1926: p. 134; Miranda-Ribeiro, 1955: p. 408; Bokermann, 1966: p. 19; Lavilla, 1994 “1992”: p. 64; Baldissera, Caramaschi and Haddad, 2004: p. 255. loc. tipo “Poço dos Rodrigues, Rio da Bagagem, Goiás”

Rhaebo anderssoni Barrio-Amorós & Castroviejo-Fisher, 2008, loc. tipo “Tacacua, Rio Uaupés, Brasil”.

Holótipo: Museum für Naturkunde, Alemanha (ZMB 315)

Localidade-Tipo: Suriname (Rivero 1961)

Paramaribo, Suriname (Presente trabalho)

Diagnose externa – Porte médio a grande (38.36 a 215 mm); Focinho em formato truncado em vista dorsal e arredondado em vista lateral; Projeção de pele próximo aos olhos, tornando a crista preocular bem evidente. Em indivíduos jovens, não há esta projeção tornando a crista preocular pouco eminente; Olhos proeminentes dirigidos lateralmente com diâmetro do olho cerca de 28% da largura da cabeça; Tímpano evidente, cerca de 68% menor que o diâmetro do olho; Glândula parotóide bem desenvolvida, 64% mais comprida que larga, com poros evidentes, ovalada, com secreção amarelada; dedos com terminação arredondada; Narinas próximas da ponta do focinho. Distância internasal cerca de 24% da largura da cabeça; membranas interdigitais nas mãos ausente; comprimento dos dedos $II < IV < III < I$; dorso com tubérculos, mais visível na região posterior do corpo. Indivíduos jovens apresentam o dorso liso; dobras de pele laterais bem desenvolvidas; comprimento do artelho $I < II < V < III < IV$ com terminação arredondada correspondendo a 33% do CRC; membrana interdigital presente, com formula $I2^{-}-2II1^{+}-3^{+}III2^{-}-3^{1/2}IV3^{3/4}-2^{-}V$; tubérculos presentes e bem desenvolvido nos membros anteriores e posteriores. Abertura da cloaca na posição superior do nível das coxas.

Descrição do crânio (baseado no exemplar MZUSP 21112) – Crânio mais largo que comprido (aprox. 24% do CRC); Ossos dérmicos do crânio completamente lisos, sem exostose, sulcos, estrias ou rugosidades; Cristas craniais ausentes; Crista preocular presente; Cristas cefálicas ausentes; Processo posterior do proótico bem desenvolvido; processo cultriforme do paraesfenóide suave em vista ventral; esfenotmóide largo e bem distinto; forame jugular orientado posterolateralmente (Figura 14).

Comparação com espécies do mesmo gênero similares. – *R. guttatus* difere de *R. haematiticus* pela coloração do dorso (castanho escuro em *R. haematiticus*), coloração do ventre (castanho

claro com alguns pontos pontilhados de castanho escuro no ventre e membros em *R. haematiticus*), ausência de crista preocular (presente em *R. guttatus*) e mancha esbranquiçada na região preocular (ausente em *R. guttatus*) (Mueses-Cisneros, 2009). De *R. lynchi*, diferencia-se pelo tamanho corporal (37,5 mm fêmea adulta em *R. lynchi*), pela ausência de crista preocular bem evidente (presente em *R. guttatus*) e coloração do ventre (cor creme com manchas reticuladas e escurecidas em *R. lynchi*) (Mueses-Cisneros, 2007). *R. guttatus* é similar a *R. ecuadorensis*, diferenciando-se pela posição da abertura da cloaca (nível médio das coxas em *R. ecuadorensis*), presença de crista preocular (ausente em *R. ecuadorensis*) e coloração do ventre (cor creme sem manchas em *R. ecuadorensis*) (Mueses-Cisneros *et al.* 2012). De *R. glaberrimus* difere pelo tamanho corporal (49,6-64,6 mm em machos de *R. glaberrimus*), ausência de crista preocular (presente em *R. guttatus*), abertura cloacal (parte inferior das coxas em machos ou ventralmente em fêmeas de *R. glaberrimus*), coloração do ventre (manchas arredondadas em *R. guttatus*), coloração da virilha e axilas (com manchas alaranjadas em *R. glaberrimus*) e coloração da garganta (cinza-escuro com linha cinza clara na mandíbula em *R. glaberrimus* e com manchas brancas em *R. guttatus*) (Mueses-Cisneros *et al.* 2012). Jovens de *R. guttatus* podem ser confundidos com *R. blombergi*, mas diferenciam-se pelo formato da glândula parotóide (mais arredondado em *R. blombergi*) e coloração do ventre (creme sem manchas em *R. blombergi*) (Mueses-Cisneros *et al.* 2012). Geograficamente, apenas *R. ecuadorensis* possuía distribuição para o Brasil de acordo com Mueses-Cisneros *et al.* (2012) e a Segalla *et al.* (2016), mas, no entanto, esta informação foi corrigida, retirando a espécie da lista de anfíbios ocorrentes no Brasil.

Variação. – A maior variação foi observada quanto ao tamanho corporal. Indivíduos amazônicos, tanto machos ($100,69 \pm 30,18$) quanto fêmeas ($114,8 \pm 29,2$) são maiores que os

indivíduos que ocorrem na bacia Tocantins-Araguaia ($92,84 \pm 24,61$ para machos e $112,1 \pm 32,1$ para fêmeas). As variações morfológicas encontradas foram baseadas em espécimes observados nas coleções visitadas e podem ter sido influenciadas por este aspecto, devido a perda da coloração quando os espécimes são mantidos em álcool 70%. Alguns indivíduos por exemplo, não apresentavam o ventre característico da espécie e possivelmente esta coloração tenha se perdido ao longo dos anos em que foi depositado na coleção. Indivíduos considerados jovens não apresentavam crista preocular bem evidente e a maior variação nos jovens foi observada na coloração do dorso, podendo ser uniforme ou apresentar manchas escurecidas, como observado em outros bufonídeos. Não houve variação entre nenhuma população analisada quanto à fórmula plantar.

Coloração em preservado. – Adultos com coloração do dorso variando de tons mais claros (acinzentados) a escuros (marrom); ventre pode perder as manchas brancas, tornando-se uniformemente bege; patas dianteiras e traseiras com padrão reticulado e alguns com padrão uniforme, mantendo a cor escura; indivíduos jovens apresentam dorso acinzentado, podendo ser uniforme ou apresentar manchas escurecidas.

Distribuição no Brasil – Ampla distribuição no Bioma Amazônico, ocupando áreas de ecótono com o Cerrado. Ocorre desde a parte mais extrema da Amazônia até o Centro-Oeste brasileiro ocupando as bacias Amazônica e Tocantins-Araguaia. Seu limite de distribuição a leste é em uma região de transição entre Amazônia e Cerrado, no município de Barra do Corda – MA, sendo inclusive, um novo registro para a região, ampliando em aproximadamente 200km a distribuição da espécie (Figura 16).

Tamanho corporal do holótipo – Adulto. Fêmea. CRC (106.08 mm); CC (29.2 mm); LC (34.8 mm); AC (16.1 mm); DO (10.6 mm); DON (7.3 mm); DIO (15.3 mm); LPS (15.8 mm); DIN (8.2 mm); DNF (6.2 mm); DT (5.2 mm); CCX (39.3 mm); CTB (37.1 mm); CP (37.7 mm); CT (21.7 mm); CAB (27.3 mm), CB (23.3 mm); CM (25 mm); LGP (14.9 mm); CGP (21.5 mm); DIP (16.9 mm).

História Natural – Rivero (1961) apresenta a informação de que a espécie é sensível a variações de altitude e têm preferência por áreas úmidas e solos cobertos por folhiços. Possivelmente, a espécie está associada a áreas de vegetação primária às margens de rios pertencentes às bacias Amazônica e Tocantins-Araguaia. Duellman (2005) apresentou a descrição do canto e girino e alguns aspectos de história natural como dieta e preferência de hábitat. Já Azevedo-Ramos *et al.* (2010) informaram que a reprodução de *R. guttatus* ocorre em corpos d'água permanentes e temporários, onde ocorre o desenvolvimento larval durante as chuvas.

Lötters *et al.* (2000) observaram a coloração do veneno expelido pela glândula parotóide de cor amarelada, contrário a coloração branca dos outros bufonídeos. Toledo *et al.* (2011) apresentaram a capacidade da espécie em esguichar o veneno da glândula parotóide voluntariamente, sendo o primeiro registro deste tipo de comportamento, ainda que em algumas populações amazônicas. Jairam *et al.* (2016) observaram um comportamento de dermofagia em *Rhaebo guttatus* e Machado & Bernarde (2011) observaram um multiamplo heteroespecífico entre *Rhaebo guttatus* e *Rhinella marina*.

Discussões

As análises integrativas realizadas proporcionaram um bom entendimento do padrão de variação da espécie. No entanto, baseado nas análises morfométricas e morfológicas, moleculares e sobreposição de nicho, concluímos que não há evidência para apoiar a existência de mais de uma espécie pertencente ao gênero *Rhaebo* no Brasil.

Considerando o número de indivíduos observados nas coleções zoológicas brasileiras, comparando com aqueles em sinonímia e o holótipo depositado na Alemanha, observamos que todos os tipos foram identificados e atribuídos corretamente a *Rhaebo guttatus*. Apesar de apenas um tipo (*Rhaebo anderssoni*), considerado sinônimo de *R. guttatus* não ter sido enviado pelo curador da coleção em que está depositado, ao observarmos as fotografias e o estudo realizado por Barrio-Amorós & Castroviejo-Fisher (2008), foi possível perceber se tratar de um indivíduo jovem, atribuído corretamente a *Rhaebo guttatus*. O complexo histórico taxonômico da espécie foi recuperado, permitindo atribuir a localidade-tipo especificamente ao distrito de Paramaribo no Suriname.

A grande maioria dos indivíduos analisados foram jovens. Algumas populações analisadas não apresentavam o ventre característico da espécie, com manchas brancas ou amareladas e principalmente, não apresentavam crista preocular evidente. Portanto, a informação de Rivero (1961) de que indivíduos jovens de *R. guttatus* possuem crista preocular bem evidente externamente não foi corroborada nesse trabalho. Provavelmente, essa característica passa a ser observada em indivíduos adultos pois o que na verdade se vê externamente é uma projeção da crista encoberta possivelmente por gordura acumulada nessa região ao longo do seu crescimento. No entanto, infelizmente não foi possível confirmar se tratar de gordura devido a manutenção do indivíduo em álcool 70%, causando necrose do tecido.

O fato de grande parte dos indivíduos analisados serem jovens torna preocupante a representatividade da espécie nas coleções já que conforme diagnosticado por Heyer (2005), indivíduos jovens podem confundir o taxonomista e fazê-lo acreditar se tratar de uma espécie nova, enquanto na verdade é apenas uma variação ontogenética. Possivelmente esta representatividade se deve a facilidade em serem encontrados, já que gastam mais tempo no chão da floresta que indivíduos adultos, que gastam mais tempo entocados (Heyer 2005) além de aparentemente, se tratar de uma espécie com diagnose fácil de ser reconhecida. Uma outra hipótese seria a sazonalidade na reprodução característica de alguns bufonídeos durante a estação seca e o início da estação chuvosa sendo incondizente com a maioria dos anfíbios anuros, que se reproduzem principalmente durante a estação chuvosa (Rossa-Feres & Jim 1994; Kopp & Eterovick 2006; Santos *et al.* 2007; Oda *et al.* 2009). Dessa forma, durante expedições, influenciadas principalmente por esta razão, os indivíduos de *Rhaebo guttatus* já se reproduziram, sendo possível encontrar apenas indivíduos jovens. Por isso, trabalhos de história natural e biologia reprodutiva da espécie devem ser encorajados no futuro a fim de entender melhor este padrão, aumentando a representatividade de indivíduos adultos nas coleções.

As análises morfológicas e morfométricas indicaram que as populações de *R. guttatus* ao longo das bacias possuem caracteres bem conservados, ou seja, apresentando pouca variação. No geral as populações amazônicas (AM) são maiores em tamanho, tanto para machos quanto para fêmeas, em relação a bacia Tocantins-Araguaia (TA). Apesar de poucos estudos demonstrarem relação entre o gradiente altitudinal e o tamanho corporal, possivelmente essa resposta ao tamanho seja um efeito conjunto de fatores bióticos e abióticos como disponibilidade de recursos hídricos, umidade, radiação ultravioleta, temperatura e tolerância térmica (Berven 1982; Giaretta *et al.* 1999; Siqueira *et al.* 2009; Siqueira *et al.* 2013).

O dimorfismo sexual, visível apenas com a presença do *vocal slits* foi corroborada através do teste de Wilcoxon-Mann-Whitney, indicando fêmeas maiores que os machos, um padrão comum entre os anfíbios anuros (Shine 1989; Kupfer 2007).

As análises de nicho climático da espécie indicaram que as áreas ocupadas pela espécie nas bacias Amazônica e Tocantins-Araguaia envolvem regiões distintas. Ou seja, a população TA ocupa áreas com maiores variações de temperatura, enquanto a população AM ocupa áreas com maior sazonalidade e variação diária de temperatura. Dessa forma, os testes indicaram que as duas populações possuem nichos distintos, mas que esta diferença é esperada pelo acaso. A análise de nicho indicou que há isolamento por ambiente e que este atua de forma conjunta ao isolamento por distância, impulsionando adaptações locais, limitando o fluxo gênico entre as populações AM e TA (Shaffer *et al.* 2013). Estes fatores podem explicar a forte estruturação encontrada.

Apesar de poucos estudos de história natural da espécie terem sido publicados, é possível que a distribuição da espécie seja altamente dependente de ambientes florestais, justificando sua ampla distribuição ligada a grandes rios pertencentes às bacias Amazônica e Tocantins-Araguaia. Todas as variáveis que foram importantes para a distribuição de *Rhaebo guttatus* no Brasil foram relacionadas à temperatura, sendo condizente com outros estudos que relacionam a distribuição e riqueza de anfíbios sendo dependente também dessa variável (e. g Araujo *et al.* 2008; da Silveira Vasconcelos *et al.* 2010; Siqueira *et al.* 2013). Portanto, de acordo com os resultados, a distribuição de *R. guttatus* é mais dependente da temperatura que precipitação, explicando dessa forma, a ampla distribuição da espécie nos Biomas Amazônia e algumas regiões do Cerrado, que possuem regimes de chuva distintos. Além disso, é possível que a tolerância termal da espécie seja alta, permitindo ocupar áreas com diferentes gradientes de temperatura, conforme relatado

para outras espécies pertencentes a família Bufonidae como *Anaxyrus cognatus* (Say, 1822), *Bufotes viridis* (Laurenti, 1768) e *Rhinella marina* (Linnaeus, 1758) (Ballinger & Mackinney 1966; Johnson 1972; Sherman 1991; Derakhshan & Nokhbatolfoghahai 2015).

Aparentemente, os rios pertencentes as bacias Amazônica e Tocantins-Araguaia têm atuado como barreira geográfica, impedindo o fluxo gênico entre as populações. Apesar disso, compartilhamento de haplótipos foram encontrados entre as populações de Pium-TO (PTO), Itaituba-PA (IPA) e Porto Velho-RO (PRO). Os resultados encontrados mostraram que fatores geográficos (barreira fluvial), ambientais (nicho climático) e isolamento por distância atuam em conjunto na estruturação encontrada, estando condizentes com estudos que relatam a importância destes fatores na diferenciação morfológica e genética das espécies (e.g Lee *et al.* 2011; Orsini *et al.* 2013; McGaughan *et al.* 2014). Dessa forma, a variação fenotípica observada em *Rhaebo guttatus* pode ser atribuída aos fatores ambientais e geográficos associados aos gradientes abióticos seletivos (Bridle & Vines 2007).

Portanto, os resultados encontrados permitiram: 1) Recuperar o histórico taxonômico da espécie; 2) Recuperar informações dos tipos atribuídos a *Rhaebo guttatus* depositados nos museus; 3) Estabelecer uma diagnose robusta e confiável para identificação da espécie; 4) Descrever a osteologia cranial da espécie; 4) Estabelecer os limites da distribuição da espécie no Brasil; 5) Evidenciar o dimorfismo sexual da espécie, considerando os grupos analisados; 6) Observar quais fatores climáticos são importantes na distribuição da espécie. 7) Redescrever a espécie com base nos tipos em sinonímias depositados nos museus, incluindo populações ocorrentes em território brasileiro. 8) Compreender a diversidade e estrutura genética entre as populações das duas bacias hidrográficas; 9) Testar a influência dos rios pertencentes a bacia Amazônica e Tocantins-Araguaia como barreiras para a distribuição e fluxo gênico.

Chamamos a atenção quanto à baixa representatividade da espécie nas coleções e o baixo número de tecidos obtidos destas coleções. Com a inclusão de novas amostras contemplando as lacunas de amostragem, estas informações obtidas podem ser somadas a estudos de filogeografia buscando melhorar a compreensão sobre a história evolutiva da espécie e consequentemente, a complexa taxonomia que envolve o nome *Rhaebo guttatus*.

Agradecimentos

Agradecemos a todos os curadores das coleções visitadas ou que enviaram fotos e exemplares e/ou tecidos. MVR agradece também a M. Lyra, A. Valencia Zuleta, T. P. F. A. Jardim, B. Vilela, M. Lima-Ribeiro, F. Villalobos pela ajuda na revisão do manuscrito, comentários e análises. Nós agradecemos a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq e Programa de Capacitação em Taxonomia – PROTAX.

Referências Bibliográficas

- Adams, D.C., & Church, J.O. (2008). Amphibians do not follow Bergmann's rule. *Evolution*, 62(2), 413–420. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2007.00297.x>
- Aiello-Lammens, M.E., Boria, R.A., Radosavljevic, A., Vilela, B and. Anderson, R. P. (2014). spThin: Functions for Spatial Thinning of Species Occurrence Records for Use in Ecological Models. R package version 0.1.0. <https://CRAN.R-project.org/package=spThin>

- Andersson, L.G. (1945). Batrachians from East Ecuador, collected 1937, 1938 by Wm. Clarke Macintyre and Rolf Blomberg. *Arkiv for Zoologi*. Stockholm 37A(2): 1–88.
- Araújo, M.B., Nogués-Bravo, D., Diniz-Filho, J.A.F., Haywood, A.M., Valdes, P.J. & Rahbek, C. (2008). Quaternary climate changes explain diversity among reptiles and amphibians. *Ecography*, 31(1), 8–15. <https://doi.org/10.1111/j.2007.0906-7590.05318.x>
- Ayres J.M. & Clutton-Brock T.H. (1992). River boundaries and species range size in Amazonian primates. *The American Naturalist* 140: 531–537.
- Azevedo-Ramos, C. La Marca, E. Hoogmoed, & M. Reichle, S. (2010) *Rhaebo guttatus*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2010.
- Baldissera-Junior, F.A. Caramaschi, U. & Haddad, C.F.B. (2004) Review of the *Bufo crucifer* species group, with descriptions of two new related species. *Arquivos do Museu Nacional*, 62(3): 255–282.
- Ballinger, R E. & McKinney, C.O. (1966). Developmental temperature tolerance of certain anuran species. *Journal of Experimental Zoology*, 161(1), 21–28.
<https://doi.org/10.1002/jez.1401610104>
- Barrio-Amorós, C.L. & Catroviejo-Fisher, S. (2008). The taxonomic status of *Rhaebo anderssoni* (Melin, 1941) (Anura: Bufonidae). *Salamandra* 43: 250-253.
- Barrio-Amorós, CL., Barros, T. & Paz, J. C. (2001) Geographic distribution: Anura: *Bufo guttatus*. *Herpetological Review*, 32(I): 112.
- Berven, K.A. (1982). The genetic basis of altitudinal variation in the wood frog, *Rana sylvatica*.
a) An experimental analysis of life history traits. *Evolution*, 36: 962-983.
<http://dx.doi.org/10.2307/2408075>.

- Bivand, R. & Lewin-Koh, N. (2017). maptools: Tools for Reading and Handling Spatial Objects. R package version 0.9-2. <https://CRAN.R-project.org/package=maptools>
- Bivand, R. & Rundel, C. (2018). rgeos: Interface to Geometry Engine - Open Source ('GEOS'). R package version 0.3-28. <https://CRAN.R-project.org/package=rgeos>
- Blair, W.F. (1972) Introduction. In: Blair, W.F. *Evolution in the Genus Bufo*. ed. Austin and London, University of Texas Press, p.3-7.7.
- Bloch, M.E. & Schneider, J.G. (1801). *Systema Ichthyologiae iconibus cx illustratum*. Post obitum auctoris opus inchoatum absolvit, correxit, interpolavit Jo. Gottlob Schneider, Saxo. Berolini. Sumtibus Auctoris Impressum et Bibliopolio Sanderiano Commissum. Pp i-lx + 1-584, Pls. 1-110.
- Bokermann, W.C.A. (1966). Lista Anotada das Localidades Tipo de Anfíbios Brasileiros. São Paulo: Servicio de Documentação, Universidade Rural de São Paulo.
- Borcard, D., Gillet, F. & Legendre, P. (2018). *Numerical ecology with R*. Springer.
- Boulenger, G.A. (1883). Description of new species of reptiles and batrachians in the British Museum. *Annals and Magazine of Natural History, Series 5*, 12:161–167.
- Brandão, R.A. Caramaschi, U. Vaz-Silva, W & Campos, L. (2013) Three new species of *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro 1920 from Brazilian Cerrado (Anura, Odontophrynidae). *Zootaxa*. 3750(4): 321–347.
- Broennimann, O., Di Cola, V. & Guisan, A. (2018). ecospat: Spatial Ecology Miscellaneous Methods. R package version 3.0. <https://CRAN.R-project.org/package=ecospat>
- Broennimann, O., Fitzpatrick, M.C., Pearman, P.B., Petitpierre, B., Pellissier, L., Yoccoz, N.G., Guisan, A. (2012). Measuring ecological niche overlap from occurrence and spatial

environmental data. *Global Ecology and Biogeography*, 21(4), 481–497.

<https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2011.00698.x>

- Bustamante, M.R. Menéndez, P.A. Cisneros-Heredia, D.F. (2005) *Bufo guttatus* (geographic distribution notes including Ecuador). *Herpetological Review*. 36(3): 331.
- Caramaschi, U. (2010) Notes on the taxonomic status of *Elachistocleis ovalis* (Schneider, 1799) and description of five new species of *Elachistocleis* Parker, 1927 (Amphibia, Anura, Microhylidae). *Boletim do Museu Nacional. Nova Série, Zoologia* 527: 1-30.
- Caramaschi, U., Cruz, C.A.G. (2013) New Species of the *Hypsiboas polytaenius* Clade from Southeastern Brazil (Anura: Hylidae). *South American Journal of Herpetology*, 8(2): 121–126.
- Cardozo, D.E. Baldo, D. Pupin, N. Gasparini, J.L. Haddad, C.F.B. (2018). A new species of *Pseudopaludicola* (Anura, Leiuperinae) from Espírito Santo, Brasil. *PeerJ*. 6:e4766.
- Cassini, C.S., Cruz, C.A.G. & Caramaschi, U. (2010) Taxonomic review of *Physalaemus olfersii* (Lichtenstein & Martens, 1856) with revalidation of *Physalaemus lateristriga* (Steindachner, 1864) and description of two new related species (Anura: Leiuperidae). *Zootaxa*, 2491, 1–33.
- Cei, J.M. (1968) Remarks on the geographical distribution and phyletic trends of South American toads. Pearce-Sellards Ser. *Texas Mem. Mus.* 13:3-21.
- Chaparro, J.C. Pramuk, J.B. & Gluesenkamp A.G. (2007). A new species of arboreal *Rhinella* (Anura: Bufonidae) from cloud forest of Southeastern Peru. *Herpetologica* 63(2): 203-212.
- Cope, E.D. (1862). Catalogues of the reptiles obtained during the explorations of the Parana, Paraguay, Vermejo and Uruguay Rivers, by Capt. Thos. J. Page, U.S.N.; and those procured by Lieut. N. Michler, U.S. Top. Eng., Commander of the expedition conducting

- the survey of the Atrato River. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 14: 346-359.
- Cope, E.D. (1865). Sketch of the primary groups of Batrachias. Salientia. Natural History Review. *New Series* 5: 97-120.
- Corander, J., Marttinen, P., Sirén, J. & Tang, J. (2013). BAPS: Bayesian analysis of population structure. *Finland: University of Helsinki*.
- Cruz, C.A.G. Cassini, C.S., Caramaschi, U. (2008) A new species of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leiuperidae) from southern Brazil. *South American Journal of Herpetology*, 3(3): 239–243.
- da Silveira Vasconcelos, T., dos Santos, T.G., Haddad, C.F.B., & de Cerqueira Rossa-Feres, D. (2010). Climatic variables and altitude as predictors of anuran species richness and number of reproductive modes in Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 26(4), 423-432.
- Dayrat, B. (2005). Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85, 407–415.
- De Andrade, F.S., Haga, I.A., Lyra, M.L., Leite, F.S.F., Kwet, A., Haddad, C.F.B., Giaretta, A. A. (2018). A new species of *Pseudopaludicola* Miranda-Ribeiro (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae) from eastern Brazil, with novel data on the advertisement call of *Pseudopaludicola falcipes* (Hensel). *Zootaxa*, 4433(1), 71–100.
<https://doi.org/10.11646/zootaxa.4433.1.4>
- De la Riva, I., Köhler, J., Lötters, S. & Reichle, S. (2000). Ten years of research on Bolivian amphibians: updated checklist, distribution, taxonomic problems, literature and iconography. *Revista Española de Herpetología*, 14, 19–164.

- De Lisle, S.P. & Rowe, L. (2013) Correlated evolution of allometry and sexual dimorphism across higher taxa. *The American Naturalist*, 182, 630–639.
- Derakhshan, Z. & Nokhbatolfoghahai, M. (2015). Thermal tolerance limits and effects of temperature on the growth and development of the green toad, *Bufo viridis*. *Salamandra*, 51(2), 129–136.
- Diniz-Filho, J.A.F., Soares, T N., Lima, J.S., Dobrovolski, R., Landeiro, V.L., Telles, M.P.D.C., & Bini, L.M. (2013). Mantel test in population genetics. *Genetics and molecular biology*, 36(4), 475-485.
- Dray, S. & Dufour, A.B. (2007). The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of statistical software*, 22(4), 1-20.
- Drummond, A.J. & Rambaut, A. (2007). BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC evolutionary biology*, 7(1), 214.
- Duellman, W.E. (2005) *Cusco Amazónico: The lives of amphibians and reptiles in an Amazonian Rainforest*. Comstock Books in Herpetology, Cornell, USA, 433pp.
- Duellman, W.E. and Schulte, R. (1992). Description of a new species of *Bufo* from northern Peru with comments on phenetic groups of South American toads (Anura: Bufonidae). *Copeia* 1992: 162–172.
- Duméril, A.M.C., and Bribron, G. (1841). *Érptologie Générale ou Histoire Naturelle Complète des Reptiles*. Volume 8. Paris: Librairie Encyclopedique de Roret.
- Excoffier, L., Laval, G. & Schneider, S. (2005). Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary bioinformatics*, 1, 117693430500100003.

- Faivovich, J. Lugli, L. Lourenço, A. C. C. & Haddad, C. F. (2009). A new species of the *Bokermannohyla martinsi* group from central Bahia, Brazil with comments on *Bokermannohyla* (Anura: Hylidae). *Herpetologica*, 65(3), 303-310.
- Fitzinger, L.J.F.J. (1843). *Systema Reptilium. Fasciculus Primus*. Wien: Braumuller et Seidel.
- Flores, E.E., Stevens, M., Moore, A.J., Rowland, H.M. & Blount, J.D. (2015) Body size but not warning signal luminance influences predation risk in recently metamorphosed poison frogs. *Ecology and Evolution*, 5, 4603–4616.
- Frost, D.R., Mendelson, J.R. & Pramuk, J.B. (2009). Further notes on the nomenclature of Middle American toads (Bufonidae). *Copeia*: 418-419.
- Frost, D.R. (2019) Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0 (Date of access). Eletronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. *American Museum of Natural History*, New York, USA.
- Frost, D.R., Grant, T., Faivovich, J., Bain, R., H. Haas, A., Haddad, C.F., De Sá, R.O. Channing, A. Wilkinson, M. Donnellan, S.C., Raxworthy, C., Campbell, J.A. Blotto, B. Moler, P. Drewes, R.C., Nussbaum, R.A., Lynch, J.D., Green, D.M & Wheller, W.C. (2006) The amphibian tree of life. *Bulletin of the American Museum of natural History*, 1-291.
- Gascon C, Loughheed S.C., Bogart J.P. (1998). Patterns of genetic population differentiation in four species of Amazonian frogs: a test of the riverine barrier hypothesis. *Biotropica* 30: 104–119.
- Gascon C., Malcolm J.R., Patton J..L, da Silva M.N., Bogart J.P., Loughheed S.C., Peres C.A., Neckel S., Boag P.T. (2000). Riverine barriers and the geographic distribution of

- Amazonian species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97: 13672–13677
- Gascon, C., Loughheed, S.C. & Bogart, J.P. (1996). Genetic and morphological variation in *Vanzolinius discodactylus*: a test of the river hypothesis of speciation. *Biotropica*, 376-387.
- Giaretta, A.A., Facure, K.G., Sawaya, R.J., Meyer, J.D.M. & Chemin, N. (1999). Diversity and Abundance of Litter Frogs in a Montane Forest of Southeastern Brazil: Seasonal and Altitudinal Changes 1. *Biotropica*, 31(4), 669-674.
- Godinho, M.B.D.C. & Da Silva, F.R. (2018). The influence of riverine barriers, climate, and topography on the biogeographic regionalization of Amazonian anurans. *Scientific Reports*, 8(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21879-9>
- Google Inc. (2015) Google earth, version 7.0.3.8542
- Gouveia, S.F. & Correia, I. (2016). Geographical clines of body size in terrestrial amphibians: water conservation hypothesis revisited. *Journal of Biogeography*, 43(10), 2075–2084. <https://doi.org/10.1111/jbi.12842>
- Graybeal, A. & Cannatella, D.C. (1995). A new taxon of Bufonidae from Peru, with descriptions of two new species and a review of the phylogenetic status of supraspecific bufonid taxa. *Herpetologica*, 105-131.
- Guibé, J. (1950 “1948”). *Catalogue des Types d’Amphibiens du Muséum National d’Histoire Naturelle*. Paris: Imprimerie Nationale.
- Guisan, A., Petitpierre, B., Broennimann, O., Daehler, C. & Kueffer, C. (2014). Unifying niche shift studies: Insights from biological invasions. *Trends in Ecology and Evolution*, 29(5), 260–269. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2014.02.009>

- Günther, A.C.L.G. (1869 "1868"). First account of species of tailless batrachians added to the collection of the British Museum. *Proceedings of the Zoological Society of London* 1868: 478–490.
- Haffer, J. (1969). Speciation in Amazonian forest birds. *Science* 165, 131–137
- Hayek, L.A.C., Heyer, W.R. & Gascon, C. (2001). Frog morphometries: a cautionary tale. *Alytes*. Retrieved from http://vertebrates.si.edu/herps/herps_pdfs/heyer_pdfs/2000s/Hayek_Heyer_Gascon_2001_18_153-177.PDF
- Heibl, C. & Calenge, C. (2018). phyloclim: Integrating Phylogenetics and Climatic Niche Modeling. R package version 0.9.5. <https://CRAN.R-project.org/package=phyloclim>
- Heyer, W.R. (2005). Variation and taxonomic clarification of the large species of the *Leptodactylus pentadactylus* species group (Amphibia: *Leptodactylidae*) from middle america, northern south america, and amazonia. *Arquivos de Zoologia*, 15(3), 269–348.
- Hijmans, R.J. (2017). raster: Geographic Data Analysis and Modeling. R package version 2.6-7. <https://CRAN.R-project.org/package=raster>
- Hijmans, R.J., Phillips, S., Leathwick, J. & Elith, J. (2011), Package ‘dismo’. Available online at: <http://cran.r-project.org/web/packages/dismo/index.html>.
- ICZN (1999) International Code of Zoological Nomenclature, 4th edition. International Trust for Zoological Nomenclature, London, xxix + 306 pp.
- Isaac N. J., Mallet, J. & Mace G.M. (2004). Taxonomic inflation: its influence on macroecology and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 19: 464–469.

- Jairam, Rawien & Lock, Dick & van der Sterren, Fleur. (2016). First Record of Dermatophagy by a Smooth-sided Toad, *Rhaebo guttatus* (Schneider 1799) in Nature. Reptiles and Amphibians Conservation and Natural history. 23. 173-174.
- Johnson, C.R. (1972). *Thermal Relations and Daily Variation in the Thermal Tolerance in Bufo marinus*. *Journal of Herpetology*, 6(1), 35–38.
- Katoh, K. & Standley, D.M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution*, 30, 772–780. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst010>
- Kessing, B. Croom, H. Martin, A. McIntosh, C. MacMillan, W.O. & Palumbi, S. (1989) The simple fool's guide to PCR. Version 1.0. Special Publication. Department of Zoology, University of Hawaii, Honolulu, 44 pp.
- Kopp, K. & Eterovick, P.C. (2006). Factors influencing spatial and temporal structure of frog assemblages at ponds in southeastern Brazil. *Journal of Natural History* 40(29-31):1813-1830
- Kumar, S., Stecher, G. & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7), 1870-1874.
- Kupfer, A. (2007). Sexual size dimorphism in amphibians: an overview. *Sex, size and gender roles: evolutionary studies of sexual size dimorphism*, 50-60.
- Lanfear, R., Calcott, B., Ho, S.Y.W. & Guindon, S. (2012) PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution*, 29, 1695–1701. <https://doi.org/10.1093/molbev/mss020>
- Lee, C.R. & T. Mitchell-Olds. (2011). Quantifying effects of environmental and geographical factors on patterns of genetic differentiation. *Molecular Ecology*. 20:4631–4642.

- Legendre, P. & Legendre, L.F. (2012). *Numerical ecology* (Vol. 24). Elsevier.
- Leite R.N, Rogers D.S. (2013). Revisiting Amazonian phylogeography: insights into diversification hypotheses and novel perspectives. *Organisms Diversity and Evolution* 13: 639–664.
- Lötters, S., De La Riva, I., Reichle, S. & Soto, G. (2000) First Records of *Bufo guttatus* from Bolivia, with comments on *Bufo glaberrimus* (Amphibia: Bufonidae). *Bonner Zoologische Beiträge*, 49: 75–78.
- Luddecke, H. (2002). Variation and trade-off in reproductive output of the Andean frog *Hyla labialis*. *Oecologia*, 130: 403–410. <http://dx.doi.org/10.1007/s00442-001-0820-5>.
- Lyra, M.L. Haddad, C.F.B. & de Azeredo-Espin, A.M.L. (2017). Meeting the challenge of DNA barcoding Neotropical amphibians: polymerase chain reaction optimization and new COI primers. *Molecular Ecology Resources*, 17(5), 966–980. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12648>
- Machado, R.A. & Bernarde, P.S. (2011). Multiple and heterospecific amplexi between the toads *Rhaebo guttatus* and *Rhinella marina* (Anura: Bufonidae). *Herpetology Notes*, 4: 167–169.
- Maia, G.F., Lima, A.P. & Kaefer, I. L. (2017). Not just the river: genes, shapes, and sounds reveal population-structured diversification in the Amazonian frog *Allobates tapajos* (Dendrobatoidea). *Biological Journal of the Linnean Society*, 121(1), 95–108.
- Marcelino, V.R., Haddad, C.F.B. & Alexandrino, J. (2009). Geographic Distribution and Morphological Variation of Striped and Nonstriped Populations of the Brazilian Atlantic Forest Treefrog *Hypsiboas bischoffi* (Anura: Hylidae). *Journal of Herpetology*. 43(2): 351–361.

- Martin, R.F. (1972). Osteology and evolution in Neotropical *Bufo*. *American Midland Naturalist*, 301-317.
- McGaughran, A., Morgan, K, Sommer R.J (2014) Environmental variables explain genetic Structure in a Beetle-Associated Nematode. *PLoS ONE* 9(1): e87317.
- Melin, D.E. (1941). Contributions to the knowledge of the Amphibia of South America. Goteborgs Kungl. Vetenskaps-och Vitterhets-samhalles. Handlingar. Serien B, Matematiska och Naturvetenskapliga Skrifter 1: 1-71.
- Miranda-Ribeiro, A. (1926). Notas para servirem ao estudo dos Gymnobatrachios (Anura) Brasileiros. *Arquivos do Museu Nacional. Rio de Janeiro* 27: 1–227.
- Miranda-Ribeiro, P. (1955). Tipos das espécies e subespécies do Prof. Alipioi de Miranda Ribeiro depositados no Museu Nacional. *Arquivos do Museu Nacional. Rio de Janeiro* 42:389-417.
- Moen, D.S. & Wiens, J.J. (2009) Phylogenetic evidence for competitively driven divergence: body-size evolution in Caribbean treefrogs (Hylidae: Osteopilus). *Evolution*, 63: 195–214.
- Morales, A., Villalobos, F., Velazco, P. M., Simmons, N. B. & Piñero, D. (2016). Environmental niche drives genetic and morphometric structure in a widespread bat. *Journal of Biogeography*, 43(5), 1057–1068. <https://doi.org/10.1111/jbi.12666>
- Morrison, C. & Hero, J.M. (2003). Geographic variation in life-history characteristics of amphibians: a review. *Journal of Animal Ecology*, 72: 270-279. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2656.2003.00696>.
- Mueses-Cisneros, J.J. (2007). A new species of *Rhaebo* (Anura: Bufonidae) from the Cordillera Occidental of Colombia. *Zootaxa*, 1662: 53-59.

- Mueses-Cisneros, J.J. (2009 “2008”). *Rhaebo haematiticus* (Cope 1862): um complexo de espécies com redescoberta de *Rhaebo hypomelas* (Boulenger 1913) y descripción de una nueva especie. *Herpetotropicos*. Mérida, Venezuela 5: 29-48.
- Mueses-Cisneros, J.J., Cisneros-Heredia, D.F., McDiarmid, R O.Y.W. (2012) A new Amazonian species of *Rhaebo* (Anura: Bufonidae) with comments on *Rhaebo glaberrimus* (Günther, 1869) and *Rhaebo guttatus* (Schneider, 1799). *Zootaxa*. 40(1): 22–40.
- Mueses-Cisneros, J.J. (2008) Análisis sistemático de los sapos del género *Rhaebo* (Amphibia: Anura: Bufonidae). Unpublished Masters Thesis. Universidad Nacional de Colombia. [unknown pagination]
- Myers, C.W. & Duellman, W.E. (1982). A new species of *Hyla* from Cerro Colorado, and other tree frog records and geographical notes from western Panama. *American Museum novitates*; no. 2752.
- Oda, F.H., Bastos, R.P. & Sá Lima, M.A.D.C. (2009). Anuran assemblage in the Cerrado of Niquelândia, Goiás State, Brazil: diversity, local distribution and seasonality. *Biota Neotropica*, 9(4), 219-232.
- Oliveira, U., Vasconcelos, M., Santos, A. (2017). Biogeography of Amazon birds: rivers limit species composition, but not areas of endemism. *Sci. Rep.* 7 (1), 2992. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03098-w>
- Orsini, L., Vanoverbeke, J., Swillen, I., Mergeay, J. & De Meester, L. (2013). Drivers of population genetic differentiation in the wild: isolation by dispersal limitation, isolation by adaptation and isolation by colonization. *Molecular ecology*, 22(24), 5983-5999.
- Padial, J.M. & De la Riva, I. (2009). Integrative taxonomy reveals cryptic Amazonian species of *Eleuthrodactylus* (Anura). *Zoological Journal of the Linnean Society*, (June), 78 pp.

- Padial, J.M., Miralles, A., De la Riva, I. & Vences, M. (2010). The integrative future of taxonomy. *Frontiers in zoology*, 7(1), 16.
- Paepke, H.J. (1999). Bloch's fish collection in the Museum für Naturkunde der Humboldt Universität zu Berlin – An illustrated catalog and historical account. A. R.G. Gantner Verlag KG, Czech Republic, 1999. 216 pp. + 32 plates.
- Pebesma, E.J. & R.S. Bivand, (2005). Classes and methods for spatial data in R. *R News* 5 (2), <https://cran.r-project.org/doc/Rnews/>.
- Peres C.A, Patton J.L, da Silva M.N.F. (1996). Riverine barriers and gene flow in Amazonian Saddle-Back Tamarins. *Folia Primatologica* 67: 113–124.
- Peters, W.C.H. (1863). Bemerkungen über verschiedene Batrachier, namentlich über die Original-exemplare der von Schneider und Wiegmann beschriebenen Arten des zoologischen Museums zu Berlin. *Monatsberichte der Königlich Preussische Akademie des Wissenschaften zu Berlin*. 76-82.
- Pimenta, B.V.S. Cruz, C.A.G. Caramaschi, U. (2014) Taxonomic review of the species complex of *Crossodactylus dispar* A. Lutz, 1925 (Anura, Hylodidae). *Arquivos de Zoologia*, 45(1): 1–33.
- Pramuk, J.B. (2006). “Phylogeny of South American Bufo (Anura: Bufonidae) inferred from combined evidence,” *Zoological Journal of the Linnean Society*, 146(3): 407–45.
- Pramuk, J.B. Robertson, T. Sites, J.W. Noonan, B.P. (2008) Around the world in 10 million years: biogeography of the nearly cosmopolitan true toads (Anura: Bufonidae). *Global Ecol. Biogeogr.* 17: 72-83.
- R Core Team. (2016) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>

- Raxworthy, C.J., Ingram, C.M., Rabibisoa, N. & Pearson, R.G. (2007). Applications of ecological niche modeling for species delimitation: A review and empirical evaluation using day geckos (*Phelsuma*) from Madagascar. *Systematic Biology*, 56(6), 907–923. <https://doi.org/10.1080/10635150701775111>
- Rissler, L.J., & Apodaca, J.J. (2007). Adding more ecology into species delimitation: Ecological niche models and phylogeography help define cryptic species in the black salamander (*Aneides flavipunctatus*). *Systematic Biology*, 56(6), 924–942. <https://doi.org/10.1080/10635150701703063>
- Rivero, J.A. (1961) *Salientia of Venezuela*. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology*, 126, 1–207 + 1 plate.
- Rojas, R.R., Carvalho, V.T., Ávila, R.W., Farias, I.P., Gordo, M. & Hrbek, T.O.M.A.S. (2015). Two new species of *Amazophrynella* (Amphibia: Anura: Bufonidae) from Loreto, Peru. *Zootaxa*, 3946(1), 79-103.
- Ron, S.R., Mueses-Cisneros, J.J., Gutiérrez-Cárdenas, P.DA., Rojas-Rivera, A., Lynch, R.L., Rocha, C.D. & Galarza, G. A. B. R. I. E. L. A. (2015). Systematics of the endangered toad genus *Andinophryne* (Anura: Bufonidae): phylogenetic position and synonymy under the genus *Rhaebo*. *Zootaxa*, 3947(3), 347-366.
- Ronquist, F. Teslenko, M. Van Der Mark, P. Ayres, D.L. Darling, A. Höhna, S. Larget, B. Liu, L. Suchard, M.A. & Huelsenbeck, J.P. (2012) Mrbayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space *Systematic Biology*, 61, 539–542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>

- Rossa-Feres, D.C. & Jim, J. (1994). Distribuição sazonal em comunidades de anfíbios anuros na região de Botucatu, São Paulo (Amphibia: Anura). *Revista Brasileira de Biologia* 54(2):323-334
- Santos, T.G.; Rossa-Feres, D.C. & Casatti, L. (2007). Diversidade e distribuição espaço-temporal de anuros em região com pronunciada estação seca no sudeste do Brasil. *Iheringia, Série Zoologia*, 97(1):37-49.
- Savage, J. M. Heyer, W.R. (1967) Variation and distribution in the tree-frog genus *Phyllomedusa* in Costa Rica, central America: With 6 figures. *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 5(2): 111-131.
- Savage, J.M. Heyer, W.R. (1997) Digital webbing formulae for anurans: a refinement. *Herpetological Review*, 28(3): 131.
- Schneider, J.G. (1799) *Historiae Amphibiorum naturalis et literariae. Fasciculus primus continens continens Ranas, Calamitas, Bufones, Salamandras et Hydros in genera et species descriptos notisque suis distinctos.*
- Sherman, E. (1991). Fever and thermal tolerance in the toad *Bufo marinus*. *Journal of Thermal Biology*, 16(5), 297–301. [https://doi.org/10.1016/0306-4565\(91\)90021-S](https://doi.org/10.1016/0306-4565(91)90021-S)
- Shine, R. (1989). Ecological causes for the evolution of sexual dimorphism: a review of the evidence. *The Quarterly Review of Biology*, 64(4), 419-461.
- Silva, D.P., Vilela, B., Buzatto, B.A., Moczek, A.P. & Hortal, J. (2016). Contextualized niche shifts upon independent invasions by the dung beetle *Onthophagus taurus*. *Biological Invasions*, 18(11), 3137–3148. <https://doi.org/10.1007/s10530-016-1204-4>
- Siqueira, C.C., Vrcibradic, D., Almeida-Gomes, M., Borges-Junior, V.N.T., Almeida-Santos, P., Almeida-Santos, M. & Van Sluys, M. (2009). Density and richness of leaf litter frogs

- (Amphibia: Anura) of an Atlantic Rainforest area in the Serra dos Órgãos, Rio de Janeiro State, Brazil. *Zoologia*, 26(1).
- Siqueira, C.C. & Rocha, C.F.D. (2013). Diferentes altitudes: conceitos e implicações sobre a biologia e distribuição e a conservação dos anfíbios anuros. *Oecologia Australis*, 17: 282-302.
- Sturaro, M.J. Peloso, P.L.V. (2014) A new species of *Scinax* Wagler, 1830 (Anura: Hylidae) from the middle Amazon river basin, Brazil. *Papéis Avulsos de Zoologia*, v. 54, n. 2, p. 9–23.
- Toledo, L.F., Rodrigues, M.T., Jared, C., Verdade, V.K. & Antoniazzi, M.M. (2011). The Amazonian toad *Rhaebo guttatus* is able to voluntarily squirt poison from the paratoid macroglands. *Amphibia-Reptilia*, 32(4), 546-549.
- Tschudi, J.J. von. (1838). Classification der Batrachier mit Berücksichtigung der fossilen Thiere dieser Abtheilung der Reptilien. Neuchâtel: Petitpierre.
- Valencia-Zuleta, S.A. (2017) Revisão taxonômica do grupo de espécies *Rhinella marina* (Linnaeus, 1758). 260 f. Dissertação (Mestrado em Biodiversidade Animal) – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Goiás, Goiás.
- Vaz-Silva, W. & Maciel, N.M. (2011). A new cryptic species of *Ameerega* (Anura: Dendrobatidae) from Brazilian Cerrado. *Zootaxa*, 2826: 57–68.
- Vaz-Silva, W., Maciel, N. M., de Andrade, S. P., and Amaro, R. C. (2018). A new cryptic species of *Oreobates* (Anura: Craugastoridae) from the seasonally dry tropical forest of central Brazil. *Zootaxa* 4441: 89–108.
- Venables, W.N. & Ripley, B.D. (2002) *Modern Applied Statistics with S*. Fourth Edition. Springer, New York. ISBN 0-387-95457-0

- Warren, D.L., Glor, R.E., & Turelli, M. (2008). Environmental niche equivalency versus conservatism: Quantitative approaches to niche evolution. *Evolution*, 62(11), 2868–2883.
<https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2008.00482.x>
- Watters, J.L. Cummings, S.T., Flanagan, R.L. & Siler, C. D. (2016). Review of morphometric measurements used in anuran species descriptions and recommendations for a standardized approach. *Zootaxa*, 4072(4), 477-495.
- Weihs, C., Ligges, U., Luebke, K. & Raabe, N. (2005). klaR Analyzing German Business Cycles. In Baier, D., Decker, R. and Schmidt-Thieme, L. (eds.). Data Analysis and Decision Support, 335-343, Springer-Verlag, Berlin.
- Wiegmann, A.F.A. (1833). Herpetologischen Beyträge. I. Ueber die mexicanischen Kröten nebst bemerkungen über ihren verwandte Arten anderer Weltgegenden. *Isis von Oken* 26: 651-662.
- Wiens, J.J. (2001) Character analysis in morphological phylogenetics: Problems and solutions. *Systematic Biology*. 50: 689.
- Yihui Xie (2018). knitr: A General-Purpose Package for Dynamic Report Generation in R.R package version 1.20.

Tabelas

Tabela 1. Medidas morfométricas dos holótipos obtidas neste estudo e de acordo com Bárrio-Amorós e Castroviejo-Fisher (2008).

Variáveis (mm)	Holótipos			
	<i>R. guttatus</i> (ZMB315)	<i>B. var. pfrimeri</i> (MNRJ375)	<i>R. leuschenautii</i> (MNHNP801)	<i>R. anderssoni</i> * (NHMG6)
	♀	♂	♂	(Jovem)
CRC	106.08	77.85	75	48.59
CC	29.2	19.82	22.6	14.14
AC	16.1	10.76	13	-
LC	34.8	23.65	24.9	15.54
DO	10.6	6.05	8.7	6.61
DON	7.3	6.42	5.8	3.02
DIO	15.3	13	15.4	4.51
LPS	15.8	5.96	7.2	4.81
DIN	8.2	5.86	6.5	-
DNF	6.2	3.89	4	-
DT	5.2	4.58	4.1	2.4
CCX	39.3	22.62	26.4	17.35
CP	37.7	24.25	26.2	16.48
CAB	27.3	14.7	17.3	-
CTB	37.1	22.3	26.6	-
CT	21.7	12.54	13.1	17.63
CB	23.3	12.71	15.3	-
CM	25	17.01	16.7	-
LGP	14.9	9.99	10.6	-
CGP	21.5	19.33	13.9	-
DIP	16.9	10.58	13.09	-

Tabela 2. Análise de Variância Molecular (AMOVA) das populações de *Rhaebo guttatus* no Brasil.

Região do DNA	Fonte de Variação	d.f	SSD	Variação dos componentes	Porcentagem da variação	Índice de fixação
16S	Entre os grupos	1	56.052	2.18903 Va	70.06	F _{ST} : 0.84
	Populações dentro dos grupos	34	43.594	0.46533 Vb	14.89	
	Dentro das populações	28	13.167	0.47024 Vc	15.05	
	Total	63	112.812	3.12459		

Tabela 3. Medidas morfométricas dos indivíduos de *R. guttatus* analisados das bacias Amazônica e Tocantins-Araguaia.

Variáveis Morfométricas	AM		TA	
	M (n=84)	F (n=56)	M (n=49)	F (n=85)
CRC	100,69 ± 30,18 (38,36–151,9)	114,8 ± 29,2 (68,34–205,45)	92,84 ± 24,61 (43,5–149,81)	112,1 ± 32,1 (68–215)
AC	13,68 ± 3,54 (6,3–20,23)	15,27 ± 4,06 (9,89–29,2)	12,75 ± 2,86 (6,43–19,41)	14,7 ± 3,4 (9,69–29,88)
CC	24,53 ± 5,96 (12,41–36,53)	27,41 ± 5,67 (18,6–48,25)	23,80 ± 4,97 (13,57–35,21)	26,6 ± 5,3 (18,34–42,65)
LC	32,30 ± 9,67 (12,86–50,39)	36,30 ± 9,85 (16,1–73,74)	30,09 ± 7,74 (14,48–46,8)	34,7 ± 8,1 (22,34–59,28)
DO	9,39 ± 2,58 (4,65–14,33)	9,98 ± 2,25 (4,91–14,8)	8,77 ± 2,03 (4,27–15,97)	9,77 ± 2,09 (5,68–16,98)
DON	8,0 ± 2,32 (3,13–13,59)	8,99 ± 2,25 (4,91–14,8)	7,12 ± 1,96 (3,4–12,0)	8,34 ± 2,09 (5,24–16,02)
DIO	17,32 ± 4,93 (7,36–25,61)	19,38 ± 4,74 (7,7–30,77)	15,86 ± 4,09 (6,74–24,23)	18,46 ± 4,54 (7,46–31,9)
DIN	8,02 ± 2,25 (3,33–12,97)	8,97 ± 2,25 (5,13–25,88)	7,33 ± 1,96 (2,89–11,78)	8,65 ± 2,28 (4,16–16,21)
DNF	4,77 ± 1,36 (1,91–7,49)	5,3 ± 1,34 (2,73–9,46)	4,37 ± 1,05 (1,64–6,77)	5,24 ± 1,33 (2,91–9,11)

DT	$5,81 \pm 1,45$ (2,7–9,0)	$6,76 \pm 1,51$ (4,36–12,59)	$5,54 \pm 1,27$ (2,63–8,92)	$7,69 \pm 5,08$ (4,16–15,65)
CCX	$37,59 \pm 12,16$ (7,26–59,65)	$44,01 \pm 12,11$ (23,45–75,74)	$35,33 \pm 9,55$ (17,33–64,19)	$41,06 \pm 10,60$ (23,02–71,55)
CTB	$38,43 \pm 11,19$ (12,39–55,92)	$43,32 \pm 10,44$ (27,45–73,28)	$34,83 \pm 8,91$ (17,05–54,29)	$41,50 \pm 11,09$ (26,94–91,84)
CP	$34,05 \pm 9,60$ (13,17–54,41)	$38,93 \pm 9,79$ (21,91–68,26)	$31,91 \pm 7,90$ (15,45–49,87)	$36,98 \pm 9,51$ (22,3–64,91)
CT	$22,85 \pm 6,70$ (8,0–37,25)	$25,15 \pm 5,90$ (15,15–42,44)	$20,26 \pm 5,43$ (9,98–33,03)	$24,29 \pm 6,62$ (14,61–46,26)
CM	$23,52 \pm 6,49$ (8,82–36,05)	$26,09 \pm 6,67$ (9,52–45,31)	$21,49 \pm 5,37$ (10,44–34,49)	$24,97 \pm 6,23$ (15,1–42,88)
CAB	$23,67 \pm 7,25$ (8,28–36,64)	$27,35 \pm 6,93$ (16,42–50,69)	$21,11 \pm 5,67$ (9,90–33,84)	$25,23 \pm 6,83$ (14,68–44,8)
CB	$29,30 \pm 10,01$ (10,59–45,85)	$33,65 \pm 9,46$ (21,24–65,31)	$27,03 \pm 7,86$ (8,62–43,51)	$32,33 \pm 8,28$ (19,44–58,47)
LGP	$17,27 \pm 4,59$ (5,12–24,51)	$15,88 \pm 4,29$ (7,71–29,14)	$13,56 \pm 3,81$ (5,66–27,04)	$16,42 \pm 5,45$ (9,25–35,92)
CGP	$22,80 \pm 7,15$ (7,81–36,48)	$25,71 \pm 6,89$ (13,77–47,39)	$22,83 \pm 5,87$ (10,0–34,17)	$26,97 \pm 7,01$ (16,07–47,72)
DIP	$17,81 \pm 5,58$ (7,07–29,77)	$19,83 \pm 5,18$ (11,66–34,14)	$16,05 \pm 4,72$ (6,91–27,29)	$18,88 \pm 5,21$ (11,17–35,9)

Tabela 4. Coeficientes de Discriminação para LDA aplicado aos grupos analisados divididos entre machos e fêmeas.

Variáveis	Machos (n=133)	Fêmeas (n=141)
	LD1	LD1
CT	-0.10	-
CGP	0.40	0.26
CTB	-0.19	-
CC	0.30	-
DIO	-0.25	-
DIN	-0.30	-
DON	-	-0.21
LGP	-	-0.21
	-	-0.52
	-	0.15

Tabela 5. Resultados do teste de Wilcoxon-Mann-Whitney realizado considerando as variáveis indicadas pela LDA.

Variáveis	Machos		Fêmeas	
	W	p-valor	W	p-valor
CT	7118	0.001*	-	-
CTB	6913	0.005*	-	-
DIO	6732	0.01*	-	-
DIN	6767	0.01*	-	-
CGP	5795	0.77	-	-
CC	6240	0.20	-	-
CAB	-	-	2603	0.03*
CGP	-	-	1912	0.28
DON	-	-	2550	0.06
LGP	-	-	2138	0.97

Tabela 6. Comparações da sobreposição de nicho (D), similaridade entre os nichos, estabilidade e expansão de nicho entre as duas populações estudadas.

	D		Similaridade (p-valor)		Estabilidade do Nicho		Expansão do Nicho	
	AM	TA	AM	TA	AM	TA	AM	TA
AM	-	-	-	0.069	-	0.812	-	0.188
AT	0.295	-	0.089	-	0.481	-	0.519	-

Lista de figuras

Figura 1. Variáveis morfométricas utilizadas no estudo. Adaptado de Watters *et al.* (2016) e Valencia-Zuleta (2017).

Figura 2. Ilustração de *Bufo leschenautii* em Duméril e Bibron (1841).

Figura 3. Ilustração de *Bufo crucifer* var. *pfrimeri* em Miranda-Ribeiro (1926).

Figura 4. Holótipo de *Rhaebo guttatus* (ZMB 315). (A) Vista Lateral; (B) membro anterior; (C) membro posterior; (D) vista ventral; (E) vista dorsal. Linha representa escala de 5mm.

Figura 5. Holótipo de *Bufo leschenautii* (MNHNP 801). (A) vista lateral; (B) vista da região da cabeça; (C) membro posterior; (D) membro anterior; (E) vista ventral; (F) vista dorsal. Linha representa escala de 5mm.

Figura 6. Holótipo de *Bufo crucifer* var. *pfrimeri* (MNRJ 375). (A) Vista lateral; (B) Membro posterior; (C) Vista da região da cabeça; (D) membro anterior; (E) Vista ventral; (F) Vista dorsal. Linha representa escala de 3mm.

Figura 7. Árvore por Inferência Bayesiana baseada em fragmentos do gene mitocondrial 16S. O clado em vermelho representa as populações na bacia Amazônica enquanto o subclado azul as populações da bacia Tocantins-Araguaia.

Figura 8. Gráfico em barras gerado pela análise implementada no Software BAPS, indicando a formação de três grupos genéticos. Norte (*cluster* vermelho/Amazônica), Centro-Oeste/Leste (*cluster* verde/Tocantins-Araguaia) e Oeste (*cluster* azul/intersecção entre Amazônica e Tocantins-Araguaia).

Figura 9. Gráfico de Mantel e correlograma indicando a correlação entre a distância geográfica e distância genética entre as populações de *Rhaebo guttatus* estudadas. (A) Relação entre o F_{ST} linearizado e as distâncias geográficas logaritmizadas ($r = 0,266$) para as 36 populações de *R. guttatus*. (B) Correlograma de Mantel para as populações de *R. guttatus* no Brasil. Símbolos fechados indicam significância de 0,05 por meio do teste de permutação ($n = 10000$).

Figura 10. Gráficos da Análise Discriminante (LDA) mostrando a variação morfométrica entre as populações de *Rhaebo guttatus* divididos por bacias Amazônica e Tocantins-Araguaia. (A) Machos e (B) Fêmeas.

Figura 11. Gráficos *boxplot* com as diferenças entre as variáveis analisadas no teste Wilcoxon-Mann-Whitney. A) Machos e B) Fêmeas.

Figura 12. Resultados da PCA-env e a relação de cada variável ambiental relacionada à distribuição de *Rhaebo guttatus*. A) Os dois primeiros eixos PCA e a orientação de cada variável ambiental em cada eixo. B) Contribuição individual de cada variável ambiental para o primeiro eixo. C) Contribuição individual de cada variável ambiental para o segundo eixo da PCA.

Figura 13. Gráficos dos resultados de sobreposição e similaridade de nicho entre as populações comparadas. A) Gráfico individual da população AM; B) gráfico individual da população TA; C) Comparação entre os nichos das populações AM e TA. As linhas contínuas representam 100% do ambiente disponível e a linha tracejada 50% das condições mais comuns.

Figura 14. Osteologia do crânio baseado no indivíduo MZUSP 21112. (A) Vista ventral; (B) Vista dorsal; (C) Vista frontal. Seta preta indica a crista preocular. Linha representa escala de 3mm.

Figura 15. Indivíduo adulto de *Rhaebo guttatus*. Seta preta indica a presença de crista preocular. Foto: Dany Paiva (Cruzeiro do Sul/AC).

Figura 16. Mapa de distribuição de *Rhaebo guttatus* baseado nas ocorrências obtidas durante as visitas às coleções.

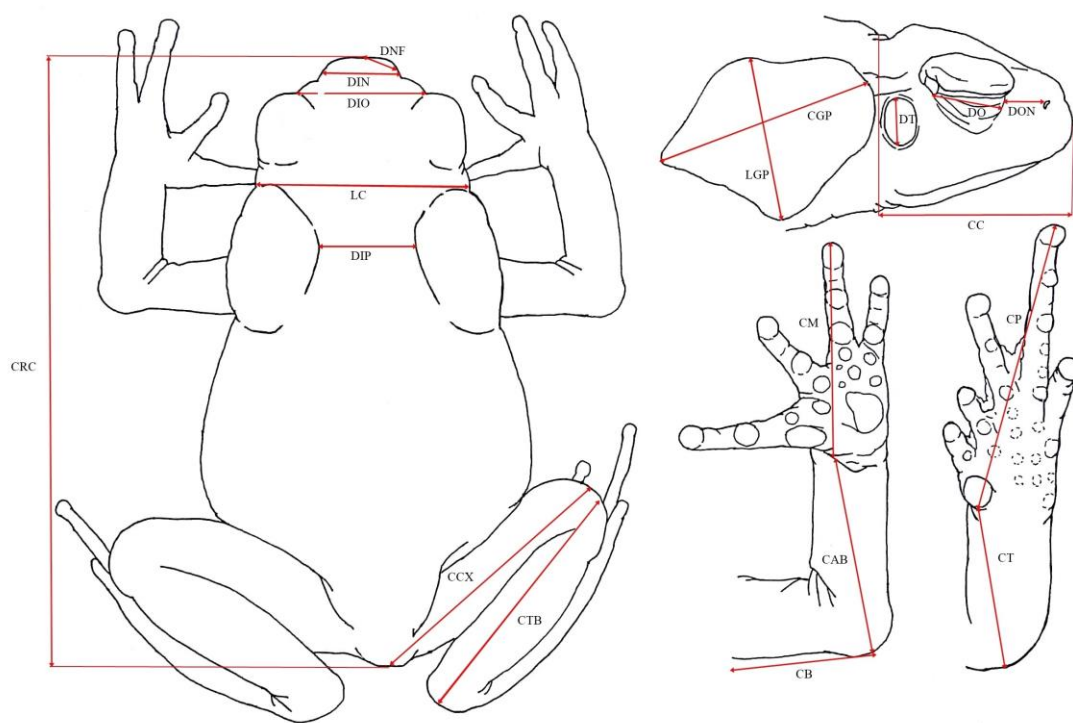


Figura 1.



Figura 2.



Figura 3.

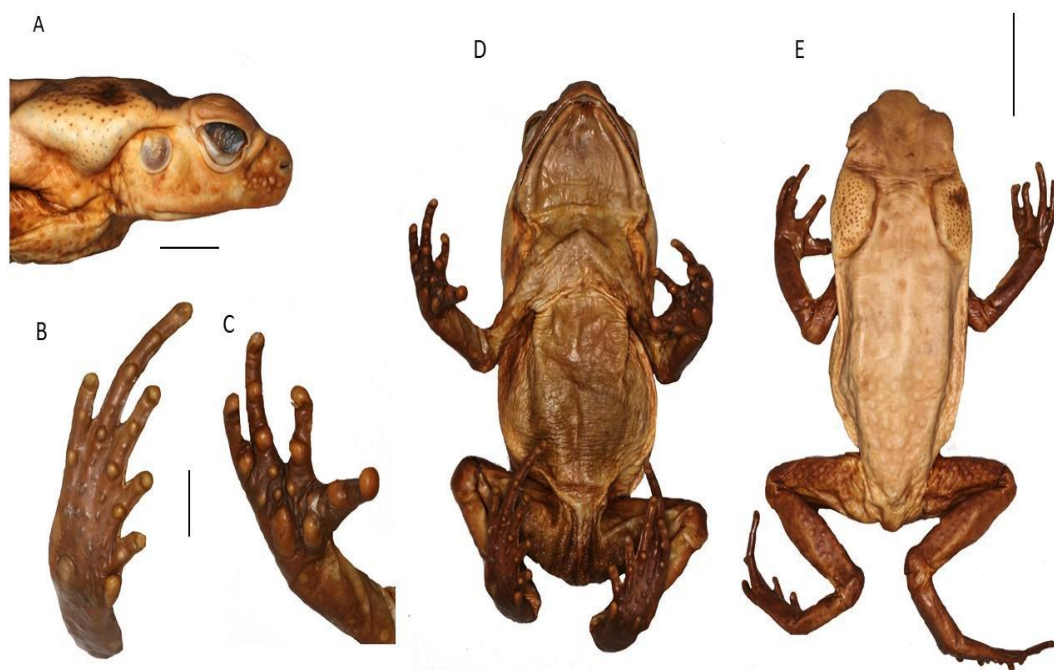


Figura 4.

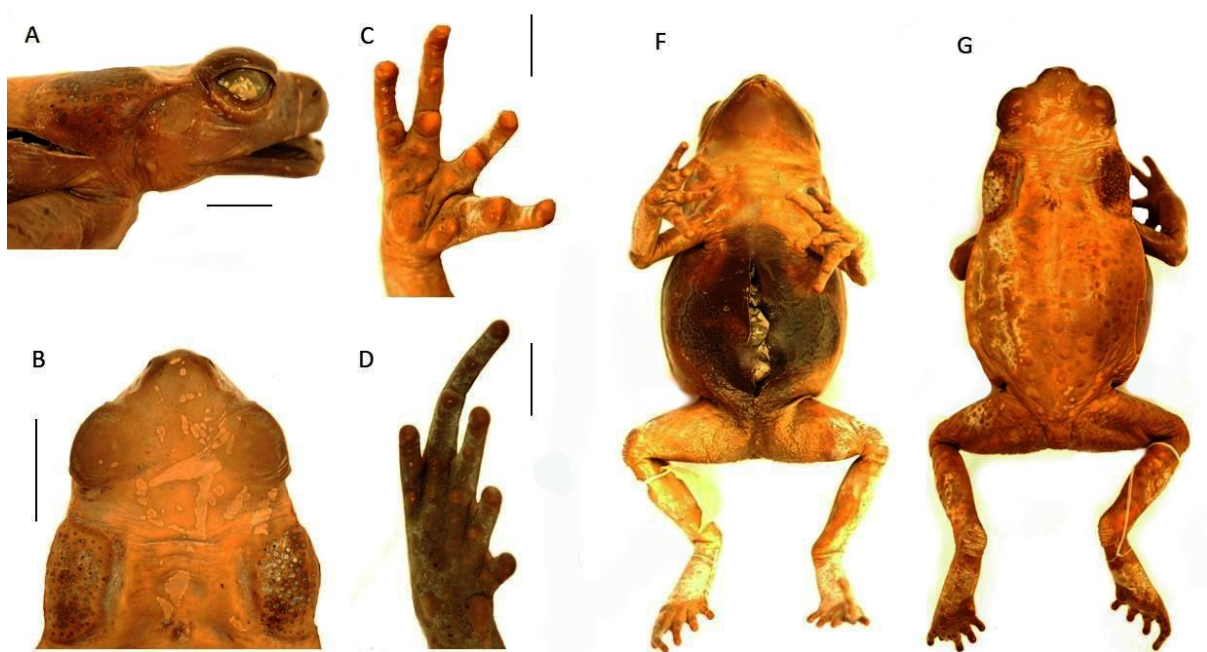


Figura 5.

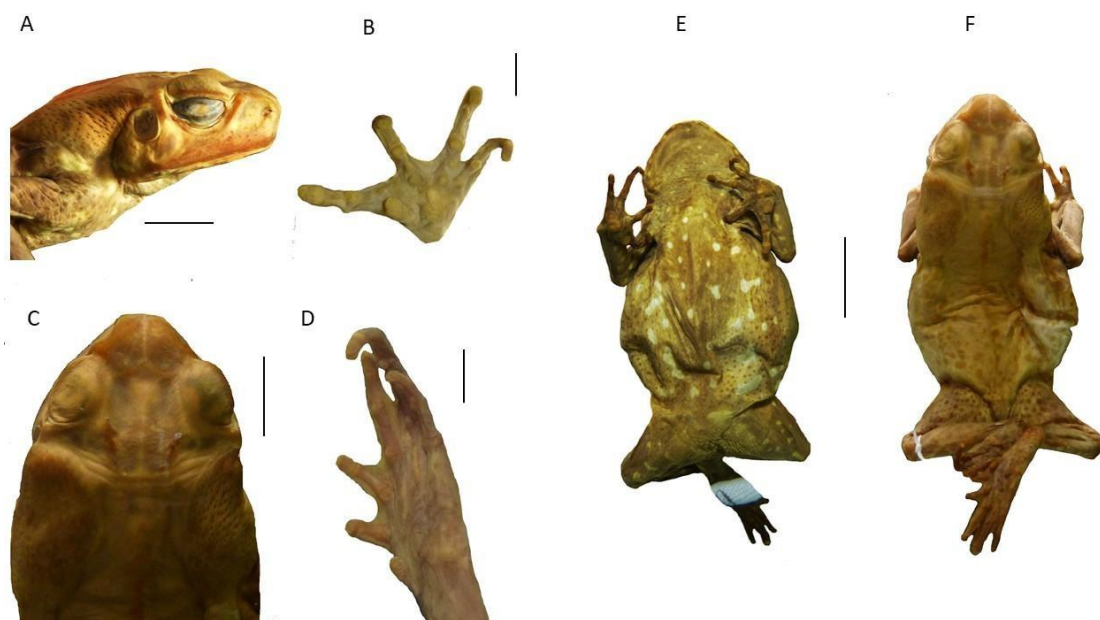


Figura 6.



Figura 7.

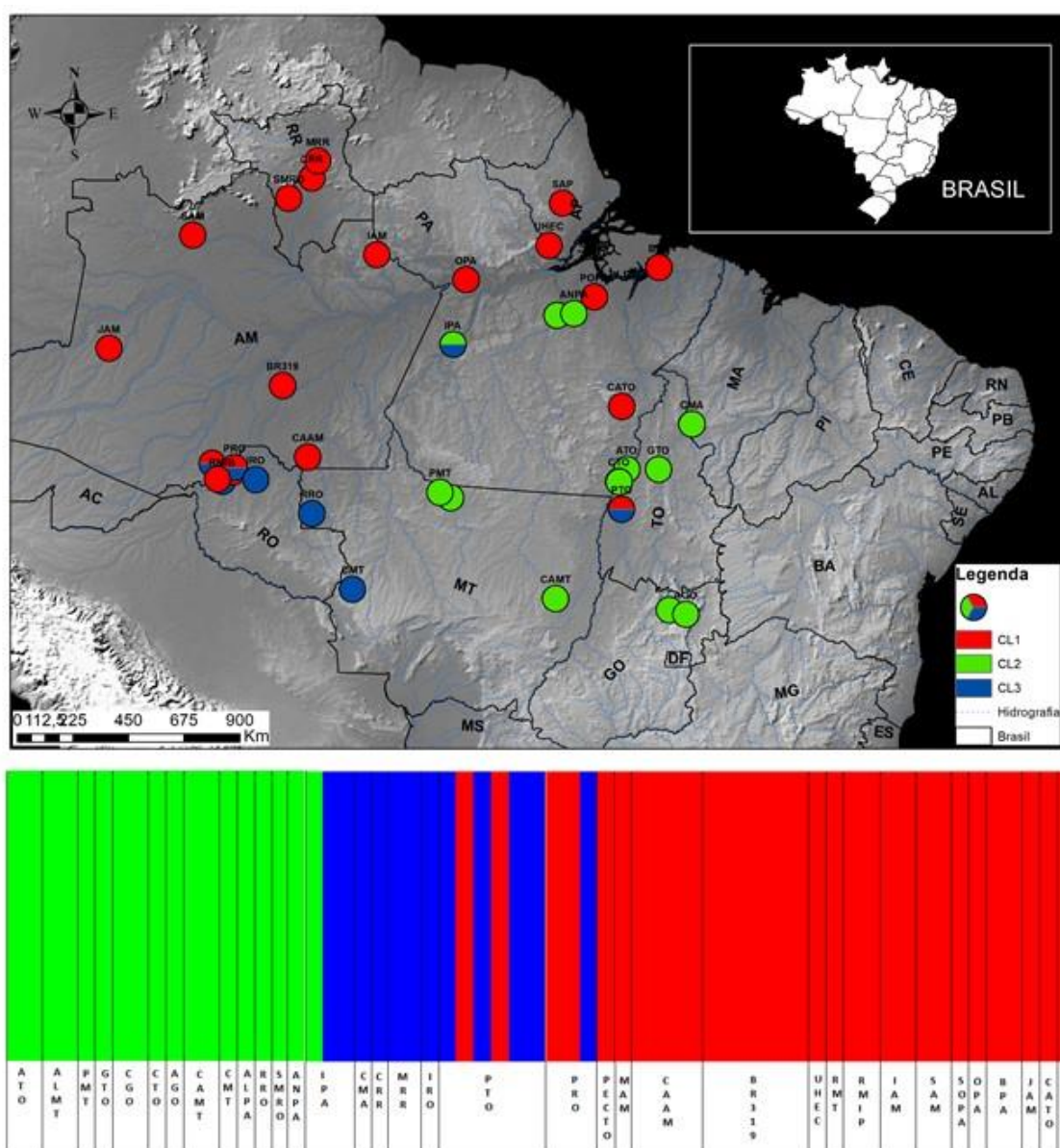


Figura 8.

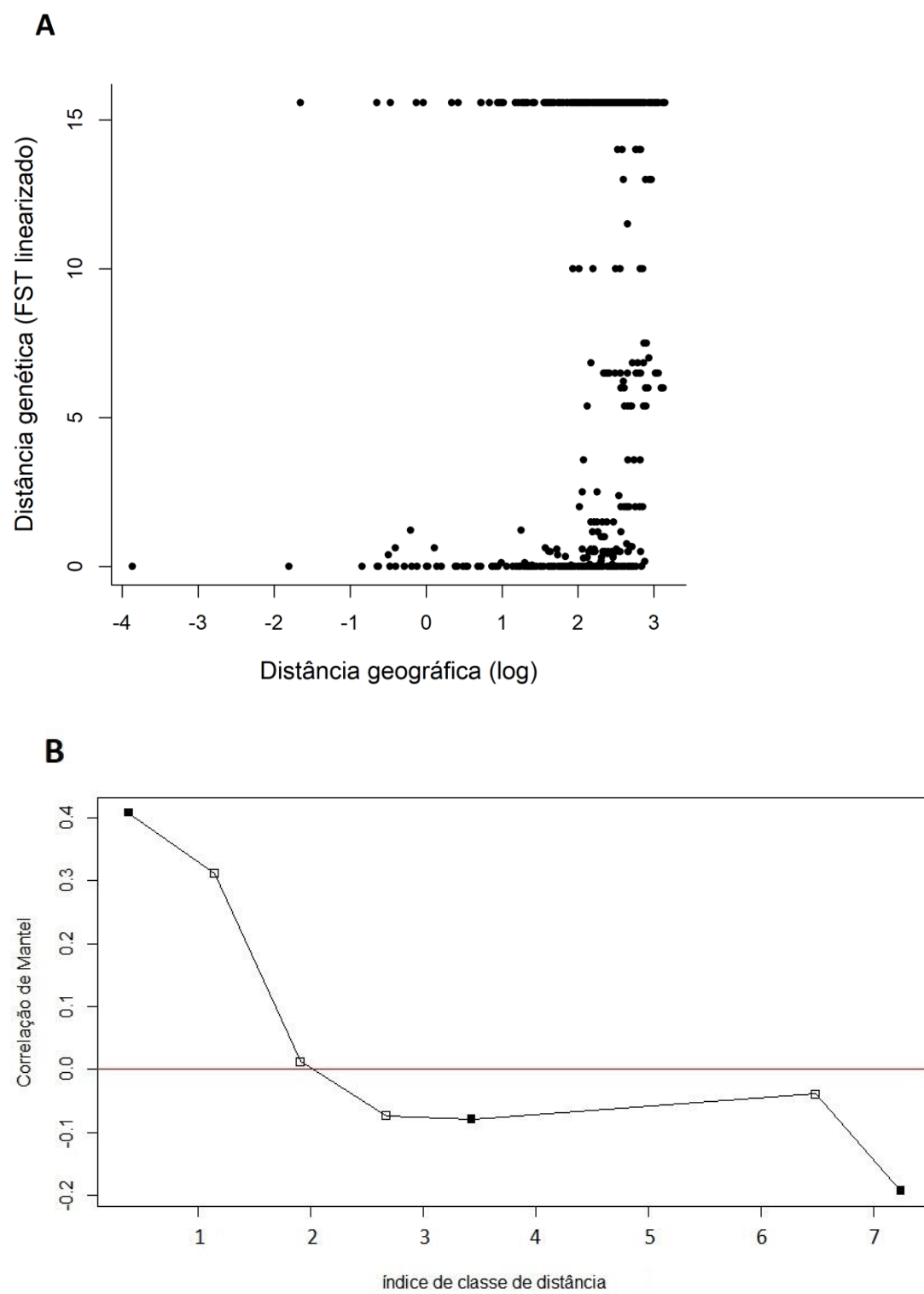


Figura 9.

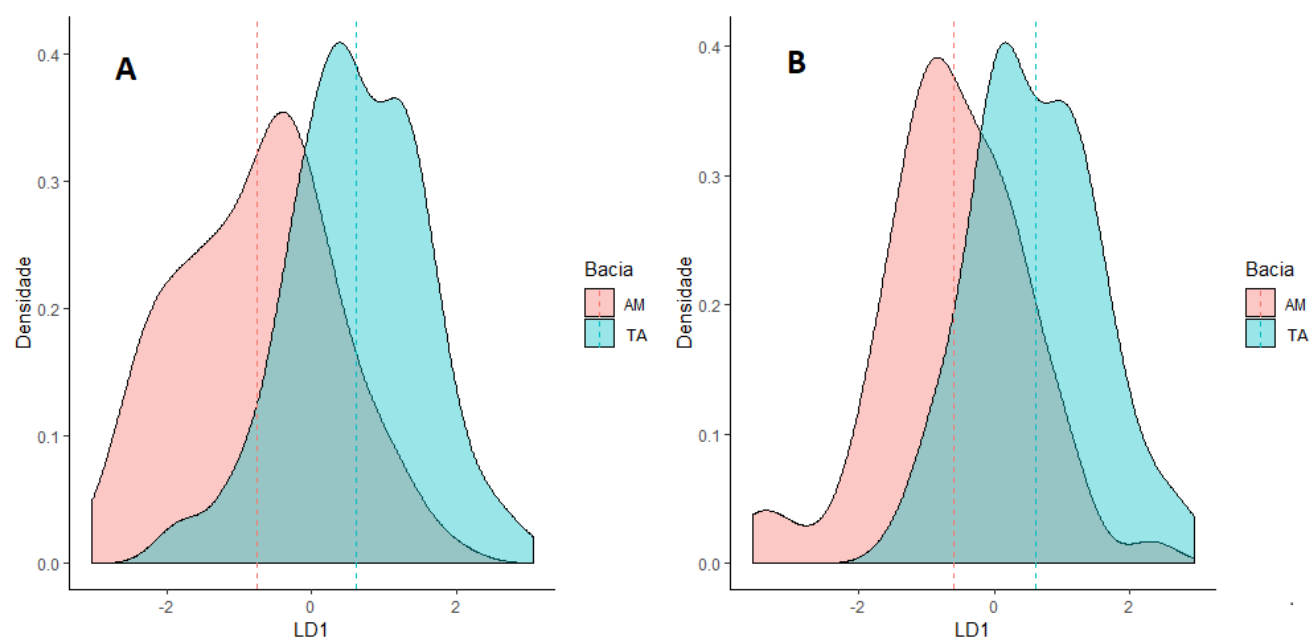


Figura 10.

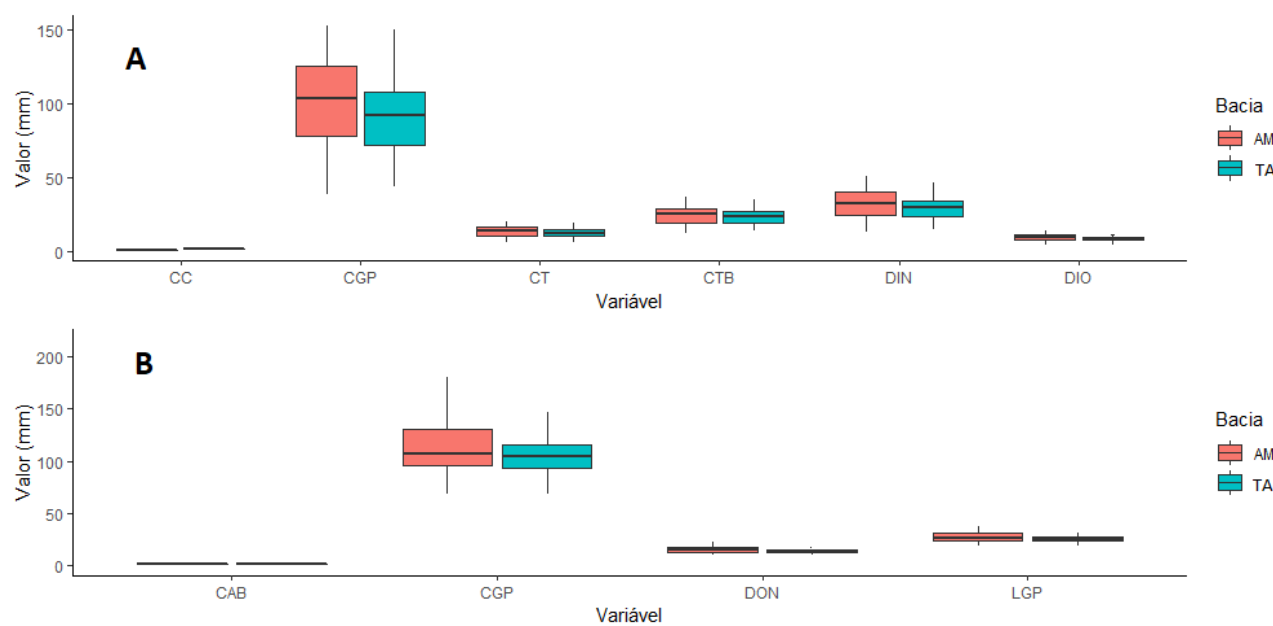


Figura 11.

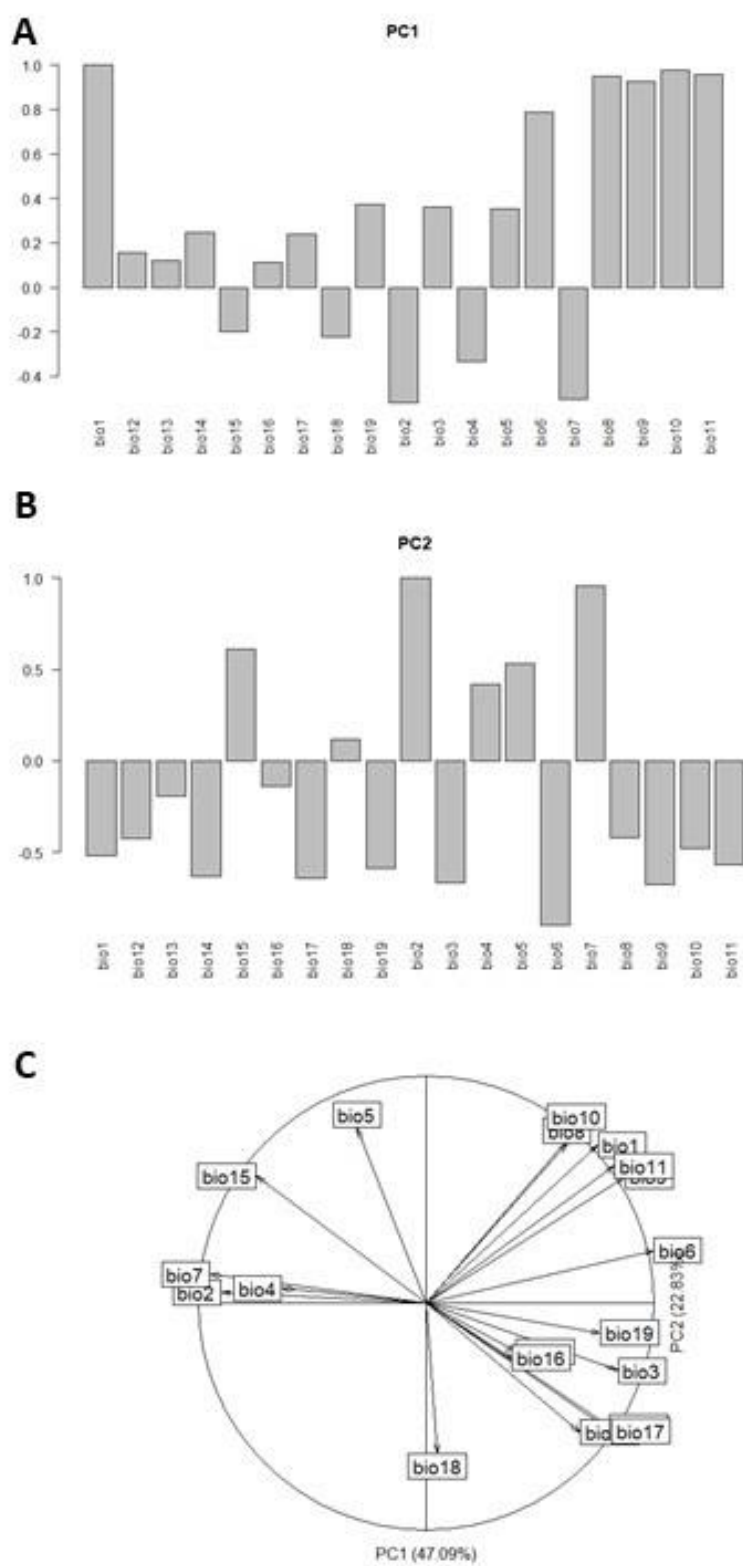


Figura 12.

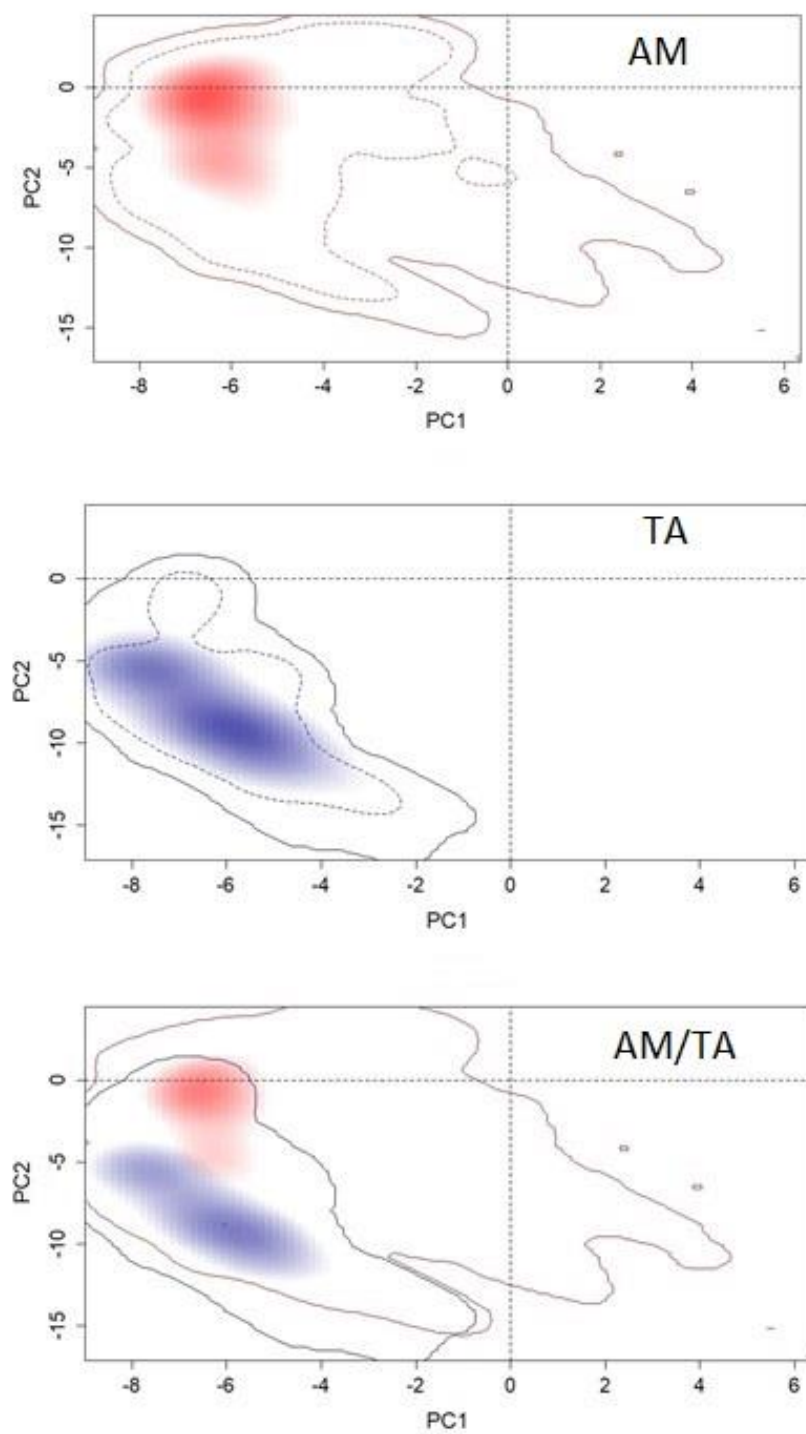


Figura 13.

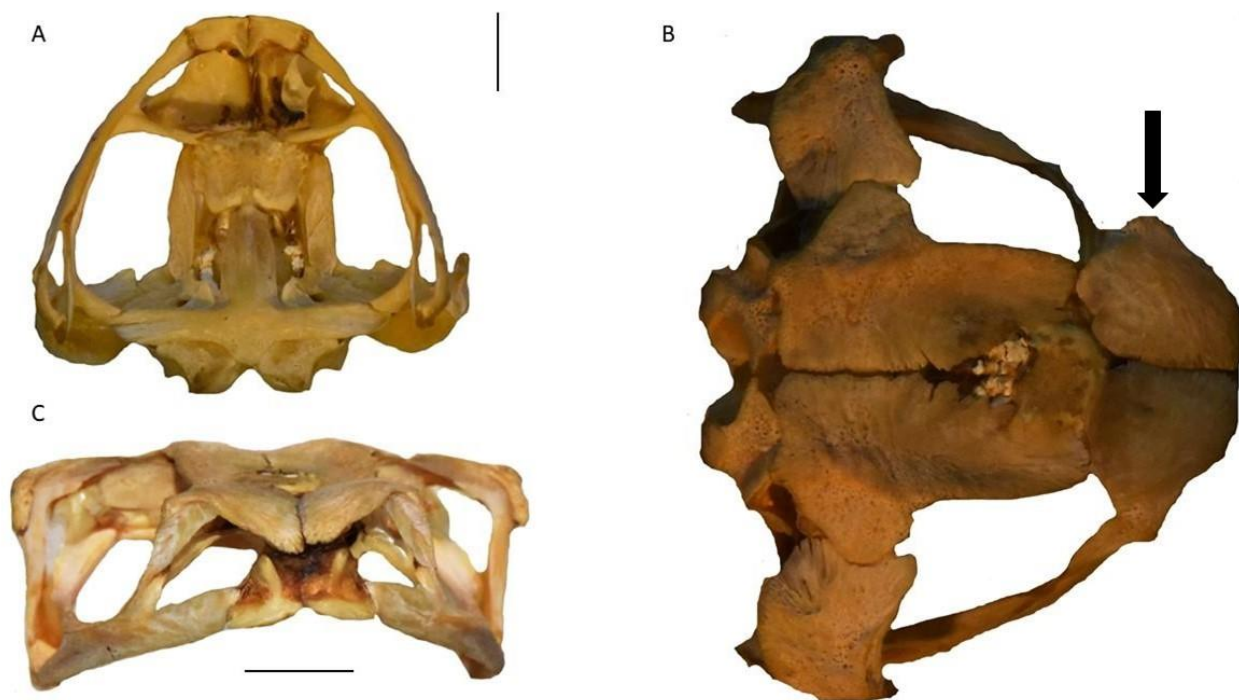


Figura 14.



Figura 15.

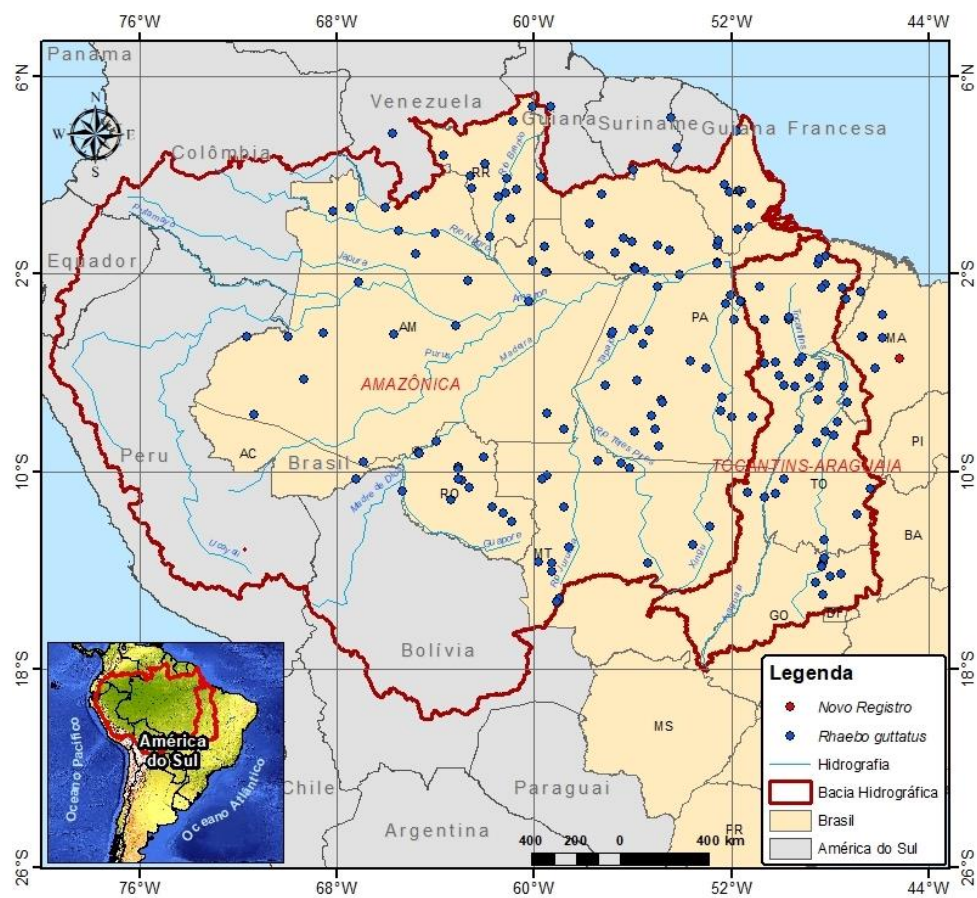


Figura 16.

Apêndice I. Protocolo de extração de DNA.

Material

Tubos de Microcentrífuga (1.5 ml)

Lysis buffer (pH 8.0; Tris base 10 mM, EDTA P.A. 100 mM, SDS 2%)

Proteinase-K (20mg/ml)

100% Isopropanol

Solução de Acetato de Amônia (5M)

Álcool 70% (gelado)

Tris-EDTA buffer (TE; pH 8.0; Tris-Cl 10 mM, EDTA 0.1 mM)

Procedimentos

- 1- Colocar um pequeno fragmento de tecido (1-3 mm) em um novo tubo de 1,5 ml para microcentrífuga.
- 2- Add 250 mL de Lysis buffer.
- 3- Add 5 mL Proteinase-K. Misturar a solução e incubar durante 4 horas a 56°C.
- 4- Add 250 mL (1x volume) de acetato de ammonia. Incubar as amostras no gelo (0 ° C) por 30 minutos.
- 5- Centrifugar a 13.000 x g por 20 min a 4 ° C (a centrifugação a frio evita o superaquecimento das amostras e fixa mais firmemente o pellet ao fundo do tubo).
- 6- Transfira cuidadosamente o sobrenadante para um novo tubo de 1,5 ml. Adicione 500 isL de isopropanol a 100%. Misture suavemente. Incubar a solução em freezer a -20 ° C ou gelo por > 30 minutos.
- 7- Centrifugar a 13.000x g por 20 min a 4 ° C. Remova cuidadosamente o sobrenadante. Tome cuidado para não perturbar o pellet.
- 8- Encha o tubo com 500 mL de etanol a 70% frio e misture suavemente. Centrifugar a 13.000 x g por 10 min a 4 ° C.
- 9- Remova cuidadosamente o sobrenadante. Cuidado extra deve ser tomado; o pellet pode mover-se mais facilmente desta vez.
- 10- Deixar secar até que os últimos vestígios de fluido tenham evaporado.
- 11- Dissolva o pellet no volume desejado de TE (geralmente entre 50-100 mL).

12- Incubar o DNA por 1 hora à temperatura ambiente (15–25 ° C) para garantir a solubilização. Prepare alíquotas para uso na reação de PCR. Armazene a –20 ° C ou –80 ° C quando não estiver em uso.

Apêndice II. Lista de tecidos obtidos nas coleções e GenBank.

Espécie	Nº de Tombo	Localidade	Genbank (16s)	Coordenadas		Referência
				Lat.	Long.	
<i>Rhaebo guttatus</i>	AMNH A141058	Guyana	DQ283375	5°40'55"N	57°51'32"W	Frost <i>et al.</i> (2006)
<i>Rhaebo guttatus</i>	LSUMZ 17418	Guajará-Mirim, Rondônia, Brasil	DQ158459	11° 6'1.51"S	64°51'25.91"O	Pramuk (2006)
<i>Rhaebo guttatus</i>	MTR_ALCX214P52	Porto Velho, Rondônia, Brasil	KU495496	9°42'00.0"S	65°21'39.6"W	Lyra <i>et al.</i> (2017)
<i>Rhaebo guttatus</i>	MW10096	Guiana Francesa	KF665347	4°32'40.12"S	-52°9'9.54"O	Liedtke (2013)
<i>Rhaebo guttatus</i>	144MC	-	EF364307	-	-	Fouquet et al . (2007)
<i>Rhaebo guttatus</i>	CHUNB46870	Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil	-	9°52'35.25"S	56°5'7.83"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	CHUNB 46096	Caseara, Tocantins, Brasil	-	9°16'16.67"S	49°57'17.26"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	GRColli16387	Alto Paraíso, Goiás, Brasil	-	14°12'33.22"S	47°41'5.65"O	Presente estudo

<i>Rhaebo guttatus</i>	CHUNB38637	Serra do Cachimbo, Novo Progresso, Pará, Brasil	-	7°2'24.96"S	55°24'55.18"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	GRColli24381	Pium, Tocantins, Brasil	-	10°26'34.06"S	49°10'47.61"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	CHUNB51791	Carolina, Maranhão, Brasil	-	7°10'38.25"S	47°17'34.21"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	CHUNB51792	Carolina, Maranhão, Brasil	-	7°10'35.46"S	47°17'32.60"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	CHUNB18170	Colinas do Sul, Goiás, Brasil	-	13°58'9.96"S	48°7'12.21"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	GRColli23612	Canarana, Mato Grosso, Goiás	-	13°33'22.96"S	52°3'4.50"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	CHUNB38823	Rondolândia, Rondônia, Brasil	-	10°26'50.33"S	61° 8'25.15"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	CHUNB46135	Parque Nacional do Cantão, Caseara, Tocantins, Brasil	-	9°23'8.60"S	49°48'52.11"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	MPEG18700	PARNA Amazônia, Itaituba, Pará, Brasil	-	4°22'44.83"S	56°46'49.64"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	FPN1863	Parna Mapinguari	-	8°46'35.05"S	64° 4'13.06"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	FPN2018	Parna Mapinguari	-	8°46'35.05"S	64° 4'13.06"O	Presente estudo

<i>Rhaebo guttatus</i>	FPN2032	Parna Mapinguari	-	8°46'35.05"S	64° 4'13.06"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	FPN2125	Parna Mapinguari	-	8°46'35.05"S	64° 4'13.06"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	FPN2136	Parna Mapinguari	-	8°46'35.05"S	64° 4'13.06"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	FPN2137	Parna Campos Amazônicos	-	8°24'32.26"S	61°15'40.45"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	FPN2173	Parna Mapinguari	-	8°46'35.05"S	64° 4'13.06"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	FPN2178	Parna Mapinguari	-	8°46'35.05"S	64° 4'13.06"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	MPEG33798	Itaituba, Pará, Brasil	-	4°15'3.09"S	55°57'31.01"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	MPEG33547	Itaituba, Pará, Brasil	-	4°15'3.09"S	55°57'31.01"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	MPEG23198	FLOTA Faro, Belém, Pará, Brasil	-	01°51'33" S	57°03'34" W	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	MPEG26118	Anapu, Pará, Brasil	-	3°28'14.28"S	51°12'3.89"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	MPEG32561	Jutaí, Amazonas, Brasil	-	4°24'3.13"S	68°31'28.97"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	MPEG30327	Rebio Maicuru, Belém, Pará, Brasil	-	0°19'11" S	54°36'52" W	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	MPEG26119	Vale do Xingu, Altamira, Pará, Brasil	-	3°12'18.65"S	52°12'26.85"O	Presente estudo

<i>Rhaebo guttatus</i>	MPEG30470	FLOTA Paru, Belém, Pará, Brasil	-	0°26'45" S	52°42'00' W	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	MPEG22692	Portel , Pará, Brasil	-	1°58'46.73"S	50°52'0.43"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	MPEG38723	Canaã dos Carajás, Pará, Brasil	-	6°31'51.28"S	49°51'5.28"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	MPEG29442	Óbidos, Pará, Brasil	-	1°54'5.21"S	55°31'16.62"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	UFROH2866	Floresta Nacional do Jamari, Itapuã do Oeste, Rondônia, Brasil	-	9°9'15.66"S	62°54'3.20"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	MNRJ85749	Comodoro, Mato Grosso, Brasil	-	13° 0'43.88"S	59°30'22.75"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	MNRJ85748	Comodoro, Mato Grosso, Brasil	-	13° 0'43.88"S	59°30'22.75"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-8318	Serra do Apiau , Roraima, Brasil	-	2°36'58.26"N	62°25'1.85"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-1148	Caracarai, Roraima, Brasil	-	1°48'47.64"N	61° 8'7.40"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-1491	UHE Santo Antônio do Jari	-	8°45'55.46"S	63°57'4.47"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-1523	UHE Santo Antônio do Jari	-	8°45'55.46"S	63°57'4.47"O	Presente estudo

<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-3023	Rio Madeira – Ilha do Búfalo	-	6°53'56.47"S	62° 6'32.82"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-345	Caracaraí, Roraima, Brasil	-	1°48'47.64"N	61° 8'7.40"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-346	Caracaraí, Roraima, Brasil	-	1°48'47.64"N	61° 8'7.40"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-3533	Porto Velho, Rondônia, Brasil	-	8°45'55.46"S	63°57'4.47"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-5919	Rio Jatapu, Amazonas, Brasil	-	0°58'58.89"S	58°45'54.97"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-5931	Rio Jatapu, Amazonas, Brasil	-	0°58'58.89"S	58°45'54.97"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-676	UHE Santo Antônio do Jari	-	8°45'55.46"S	63°57'4.47"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-681	UHE Santo Antônio do Jari	-	8°45'55.46"S	63°57'4.47"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-7770	Parque Nacional da Serra da Mocidade, Rondônia, Brasil	-	1° 5'6.42"N	61°59'7.48"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-8310	Macujaí, Roraima, Brasil	-	2°26'35.96"N	60°55'7.25"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-8318	Macujaí, Roraima, Brasil	-	2°26'35.96"N	60°55'7.25"O	Presente estudo

<i>Rhaebo guttatus</i>	JPC20254	PE do Cantão, Tocantins, Brasil	-	9°17'17.07"S	49°56'41.38"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-5923	Rio Jatapu, Amazonas, Brasil	-	1° 3'43.23"S	58°44'18.45"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-1517	UHE Sto Antônio do Jari (Carrapatinho), Pará, Brasil	-	0°39' S	52°31' O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-1158	Parque Nacional do Viruá, Caracarai, Roraima, Brasil	-	1°17'26.82"N	61°9'9.20"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-3995	Rio Madeira-Ilha da Pedra, Porto Velho, Rondônia, Brasil	-	09°09'32" S	64°38'02" W	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-3547	Rio Madeira-Jaci Direito, Porto Velho, Rondônia, Brasil	-	9°20'43.43"S	64°17'48.74"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-3461	Rio Madeira-Ilha do Bufalo, Porto Velho, Rondônia, Brasil	-	9° 9'42.43"S	64°31'32.98"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-7791	Parque Nacional da Serra da Mocidade, Roraima, Brasil	-	1°4'29.88"N	61°58'27.14"O	Presente estudo

<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-664	UHE Sto Antônio do Jari (Vila Iratapuru), Amapá, Brasil	-	0° 7'20.25"N	52°37'3.44"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-3107	Rio Madeira, Porto Velho, Rondônia, Brasil	-	8°54'54.99"S	64° 0'24.63"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-6184	Santa Isabel do Rio Negro, Amazonas, Brasil	-	0°16'21.19"S	65°28'32.65"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-100	BR-319, Porto Velho, Rondônia, Brasil	-	5°44'9.10"S	62°16'36.20"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	INPAHT-6162	Santa Isabel do Rio Negro, Amazonas, Brasil	-	0°16'21.19"S	65°28'32.65"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	AAG-UFU6211	Serra do Navio, Amapá, Brasil	-	1°38'5.35"N	52°16'34.44"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	CH10066	Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil	-	9°52'2.00"S	56° 5'13.21"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	CH2818	Araguacema, Tocantins, Brasil	-	8°48'31.01"S	49°33'24.74"O	Presente estudo

<i>Rhaebo guttatus</i>	CH2819	Araguacema, Tocantins, Brasil	-	8°48'31.01"S	49°33'24.74"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	CH13829	Guaraí, Tocantins, Brasil	-	8°50'8.15"S	48°30'41.47"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	CH13830	Guaraí, Tocantins, Brasil	-	8°50'8.15"S	48°30'41.47"O	Presente estudo
<i>Rhaebo guttatus</i>	CH10067	Paranaíta, Mato Grosso, Brasil	-	9°40'21.58"S	56°28'21.99"O	Presente estudo

Apêndice III. Espécimes examinados

BRAZIL: ACRE: MZUSP 6694-6753 (Iquirí: 66°27'50.64"O, 8°51'1.82"S); MZUSP 6754-6879 (Plácido de Castro: 67°11'13.20"O, 10°19'23.15"S); **AMAPÁ:** MPEG 40075, 39837, 9926 (Flona do Amapá: 51°40'4.50"O, 1°21'0.79"N); MPEG 34429-30, 10040, 10072, 10075, 10087, 10099, 10184-85, 10191, 10192, MZUSP 110220-23, 110216-17 (Mazagão: 51°17'26.96"O, 0°5'53.17"S); MPEG 20583 (Oiapoque: 51°49'56.24"O, 3°50'39.04"N); MZUSP 110211-13, 110218, MPEG 14432 (Serra do Navio: 52°0'11.96"O, 0°54'10.85"N); **AMAZONAS:** CHUNB 38481-84, INPA-H18452-18454, INPA-H17453-17455 (Apuí: 59°53'30.72"O, 7°11'58.61"S); MNRJ 32496-32497, 36238, 36240, 36246-36255 (Barcelos: 62°55'32.06"O, 0°58'26.37"S); MPEG 16789, 16803, 26109 (Coari: 63°8'53.88"O, 4°5'26.55"S); MPEG 4146, 423-25, 32562-32564 (Jutaí: 68°31'28.97"O, 4°24'3.13"S); MPEG 12889, 12890 (Lábrea: 65°18'49.50"O, 8°25'31.51"S); MNRJ 68123-68124, INPA-H594, INPA-H598, INPA-H598, INPA-H836, INPA-H02 (Presidente Figueiredo: 60°1'29.43"O, 2°3'13.03"S); MPEG 5164 (Tefé: 65°39'45.47"O, 4°27'33.39"S); MZUSP 723 (Guajará: 71°43'50.95"O, 7°6'21.74"S); MZUSP 110224, MPEG 647 (Estirão do Equador: 71°36'12.05"O, 4°23'13.23"S); MZUSP 110224 (Rio Cauaburí: 66° 0'41.34"O, 0°21'15.35"N); INPA-H9620 (Parna do Jaú: 62°38'24.05"O, 2°19'58.89"S); INPA-H15640-15651, 15702-15706, 15768, 18370-72 (Parna Pico da Neblina: 66°0'24.00"O, 0°48'17.00"N); INPA-H030314-30315, 30321, 28939-45, 30315- 30332 (UHE Santo Antônio do Jari: sem coordenadas); INPA-H30162 (Resex do Rio Gregório: 71°18'43.22"O, 7°42'59.69"S); MPEG 18705-18706 (Parna da Amazônia: 56°47'40.31"O, 4°22'55.98"S); MNRJ 2540 (Manaus: 60°1'56.35"O, 3°8'17.47"S); INPA-H21629 (Novo Aripuanã: 60° 1'33.40"O, 6°18'7.06"S); INPA-H24589 (Rebio Uatumã: 59°27'28.62"O, 1°13'38.81"S); INPA-H25725 (BR-319: 62°18'54.51"O, 5°33'54.12"S); UFAM 161-163 (Santa Isabel do Rio Negro: 64°47'47.3"O, 0°23'58.3"S); UFAM 1661 (Japurá: 069°01'46.3"O,

01°50'46.1"S); MZUSP 63879, 63880 (Juruá: 66°47'32.81"O, 3°55'9.37"S); **GOIÁS:** CHUNB 4875, 4877, 4878, MZUSP 71722-26, 89214, 89221, MNRJ 54760, MZUSP 89210-89224 (Minaçu: 48°13'21.26"O, 13°31'46.38"S); CHUNB 36037-39, 43645, 43646, MNRJ 66240 (Colinas do Sul: 48°7'12.22"O, 13°58'9.96"S); CEPB 6778, 7717-7719, 9428-30, 167, 169, 4684, 4690-97, MNRJ 54780, MNRJ 375 (Holótipo) (Niquelândia: 48°33'31.50"O, 14°28'17.47"S); CHUNB 43655, 43646, ZUFG 10219, 10089-92 (Alto Paraíso de Goiás: 47°33'11.01"O, 14° 8'26.65"S). **MARANHÃO:** MPEG 38363 (Alto Alegre do Pindaré: 45°51'0.75"O, 3°40'7.40"S); MPEG 35975-78 (Bom Jesus das Selvas: 46°38'59.42"O, 4°31'25.26"S); CHUNB 51787, 51790-93, MZUSP 110206, 144833, 145574, 145575 (Carolina: 47°16'54.28"O, 7°7'57.66"S); MZUSP 28280, 28282-86 (Aldeia Araçu: 46°28'48"O, 2°33'36"S); MZUSP 21223, 21110, 21111, 21113 (Barra do Corda: 45°13'59.54"O, 5°17'21.92"S); MZUSP 145299, 144300 (Estreito: 46°49'55.81"O, 6°10'16.56"S); MZUSP 1800, 2485 (Médio Pindaré-Posto Gonçalves Dias: 45°54'45.81"O, 4°40'57.28"S); **MATO GROSSO:** CHUNB 38823 (Rondolândia: 61° 4'43.69"O, 10°25'34.80"S); CHUNB 29299-29300, 46865 – 46871, 46872, 76477-85 (Alta Floresta: 56°5'18.23"O, 9°52'2.56"S), CHUNB 71336-71138, 71136, 71137 (Querência: 52°52'26.91"O, 12°14'19.54"S); MNRJ 85746-49, 87719-87721, MZUSP 14881 (Comodoro: 59°47'O, 13°39'S); MZUSP 84669 (Apiacás: 57°23'55.76"O, 9°34'35.74"S); MNRJ 4221-23, MZUSP 79864, 79865, 87668 (Aripuanã: 59°28'O , 10°10'S); CHUNB 76827, 76828, MZUSP 83601-05, (Gaúcha do Norte: 53°33'48.83"O, 12°57'56.05"S); MZUSP 110227 (Alto Juruena: 59°16'21.56"O, 14° 5'41.25"S); MZUSP 148723 (Campos de Júlio: 59°14'10.12"O, 13°46'51.01"S); MZUSP 151937, 151938 (Juína: 58°45'25.81"O, 11°25'22.09"S); MZUSP 154412 (Paranaíta: 56°28'22.03"O, 9°40'21.61"S); MZUSP 138471-80 (Vale de São Domingos: 59° 2'53.54"O, 15°15'56.30"S); MZUSP 80511, 80512, 28277-79, MNRJ 2467, 2491 (Rio

Tapirapé: 51°19'48.60"O, 10°51'18.62"S); MZUSP 151726, 147016 (Sapezal: 58°49'13.63"O, 13°32'52.36"S); **PARÁ:** MPEG 29619 (Alenquer: 54°57'40.26"O, 0°52'0.43"S) MPEG 14602, 26110, 30470-78, 3216-19, 3230-34 15135, 30999-31002, MNRJ 42855-60 (Almeirim: 52°36'10.04"O, 1°31'15.02"S); MZUSP 143509 , MPEG 26111, 26112, 8580, 29151, 39694, 32565-70, 32572 (Altamira: 52°12'37.19"O, 3°11'55.02"S) MPEG 26117, 26118, 21975, 21976 (Anapú: 51°35'38.85"O, 3°7'56.57"S); MNRJ 42847-50 (Arapari: 54°24'38.36"O, 1°45'16.23"S); MPEG 40459, 40460, 38721-23, CHUNB 38637 (Canaã dos Carajás: 49°54'40.75"O, 6°28'0.68"S); MNRJ 2199 (Cachimbo: 54°54'5.62"O, 8°56'56.19"S); MZUSP 55705, 55706 (Conceição do Araguaia: 48°56'42.21"O, 8°33'40.62"S); MPEG 23194-99, 2982, 2988, 30316-18 (Faro: 57°44'4.60"O, 1°13'14.33"S); MZUSP 59692, MPEG 3194 (Aldeia Gorotire: 51°37'48.18"O, 7°16'39.34"S); MPEG 19594 (Ipixuna do Pará: 47°29'58.22"O, 2°33'26.41"S); MPEG 18141-44, 18342, 18697-18703, 18710, 26113-16, 26119, 31601, 33798, 36680, 36681, 33543-47, 4099, 4100, 426, 584, 605, 41055, MZUSP 146936-40, 54657, 54678 (Itaituba: 56°0'35.03"O, 4°16'17.48"S); MPEG 23380, 30319 (Jacareacanga: 57°44'57.28"O, 6°12'40.09"S); MPEG 14158 (Senador José Porfírio: 51°51'7.21"O, 3°51'11.94"S); MNRJ 61097, MZUSP 140156, 140157, 139570-79, MPEG 10420, 11394, 14241, 14429, 29117, 40231, 40232, 10330, 10322, 28296, 28297 (Marabá: 50°10'59.71"O, 5°35'33.76"S); MPEG 34653 (Mojú: 48°46'44.25"O, 1°53'44.40"S); MNRJ 42853, 42854 (Monte Alegre: 54°4'26.67"O, 2°0'5.09"S); MPEG 32574, CHUNB 40222, 40223, 47364, 47365, 57219; MZUSP 110207, 110210 (Novo Progresso: 55°12'25.00"O, 7°43'45.13"S); MPEG 29442, 30692, 30693 (Óbidos: 5°31'3.72"O, 1°53'58.76"S); MPEG 14430, 14431, 3823, 3824 (Oriximiná: 55°53'26.76"O, 1°43'26.47"S); MNRJ 80840-42 (Pacajá: 50°38'14.38"O, 3°50'5.64"S); MPEG 10241, 10253, 10306 (Palestina do Pará: 48°19'6.66"O, 5°44'26.37"S) MPEG 14621, 19592, 19593, 1618 (Paragominas:

47°21'11.15"O, 3°0'9.42"S); MNRJ 91550, MPEG 9277, 9925, 25104, 25105, 27646-57, 30320-28, 8628-32, 933 (Parauapebas: 49°54'12.90"O, 6°4'7.49"S); MPEG 2980, 22696 (Portel: 50°50'44.28"O, 2°31'39.99"S); CEPB 9587-90 (Rurópolis: 54°54'40.37"O, 4° 5'37.18"S); MPEG 11871-11872 (Santarém: 54°38'56.97"O, 2°29'20.83"S); MPEG 20617 (Santa Isabel do Pará: 48°9'52.60"O, 1°17'53.42"S); MPEG 10630, 39422, 39570, 801-04, 8579, 22693, 22694, 39567-69, 40740, 40741, 9276 (São Félix do Xingu: 52°21'40.81"O, 7°1'4.61"S); MPEG 36452, 36453 (São Geraldo do Araguaia: 49°11'20.41"O, 6°17'35.69"S); MZUSP 110228 (Tiriós: 55°56'27.23"O, 2°11'55.60"N); MPEG 10243 (Tomé-Açu: 48° 9'16.40"O, 2°25'6.22"S); MZUSP 83359, MPEG 10596 (Tucuruí: 49°40'1.58"O, 3°45'51.39"S); MZUSP 59031, 28542, 59151-55, 60273-77, (Rio Curuá-Una: 54°22'52.20"O, 2°43'38.34"S); MPEG 18644, 18646, 25110, 26108, 30329, 30330, 30331 (Vitória do Xingu: 52°0'45.23"O, 2°53'7.90"S); MNRJ 42852 (Rio Maicuru: 54°30'1.44"O, 1°0'11.39"S); MZUSP 28542, 29161 (Rio Cuminá-Mirim: 55°58'55.15"O, 0°19'48.34"S); MZUSP 70535, 70536, 69870-72, 70100 (Serra de Kukoinhokren: 51°57'0.00"O, 7°46'0.00"S); MPEG 606 (Rio Acará: 48°34'0.81"O, 2°13'28.36"S); MZUSP 70061 (Rio Vermelho: 49°25'1.74"O, 6°31'43.88"S); MPEG 1526, 1688, 1689 (Porto Jarbas Passarinho: 53°9'4.32"O, 3°30'53.15"S); **Rondônia:** MZUSP 77727, MNRJ 84010, MZUSP 68251-55 (Ariquemes: 63° 1'58.82"O, 9°54'22.38"S); MPEG 7591 (Ji-Paraná: 61°54'47.63"O, 10°50'25.48"S); MZUSP 154332-39 (Machadinho d'Oeste: 62°1'9.82"O, 9°25'28.24"S); MZUSP 62290, 62291 (Marco Rondon: 60°51'51.99"O, 12° 0'45.02"S); MZUSP 114508-11, 113287-97 (Cacaulândia: 63°17'47.38"O, 0°16'19.63"S); MZUSP 62242 (Pilões: 61°39'59.96"O, 11°25'17.81"S); CHUNB 18741, 18743-47, 18749, 8742, (Pimenta Bueno: 61°11'54.48"O, 11°40'20.65"S); MZUSP 152723, 61647-49, 62241, 143322, 145957, 151310, MPEG 37708, 607 (Porto Velho: 63°55'49.92"O, 8°45'4.69"S); MZUSP 152722, 152723,

148740-42, 148744, 143322, 145957, 146268, 151310, 148739, 143261, 139311, 63783, 149185
 MPEG 37708, 607 (Porto Velho: 63°56'36.64"O, 8°45'57.16"S); MZUSP 60429 (Nova Colina:
 61°41'35.17"O, 10°47'30.12"S); MZUSP 153023 (Mutum: 63°42'11.42"O, 8°33'16.23"S);
 MZUSP 61259-93 (Santa Cruz da Serra: 62°35'12.30"O, 10°39'7.29"S); **Roraima:** MNRJ 27309
 (Pacaraima: 61°8'48.99"O, 4°28'42.90"N); MPEG 36250-52 (Rorainópolis: 61°47'4.64"O,
 0°30'32.26"S); MZUSP 67235 (Ilha Paracanatuba: 61°20'59.90"O, 1°9'1.60"N); MZUSP 67235,
 62458-65 (Serra da Saracura: sem coordenadas); MZUSP 28275, 65815, 62533 (Alto Alegre:
 63°23'32.61"O, 3°11'50.79"N); MZUSP 28275, 65891-02, 65935 (Macujaí: 62°43'35.15"O,
 2°57'16.84"N); MZUSP 70716; MZUSP 58530 (Rio Catrimani: 62°33'36.24"O, 1°33'6.95"N);
 INPA-H19296 (Parque Nacional do Viruá: 61°9'9.20"O, 1°17'26.82"N); **Tocantins:** CHUNB
 24762, 24763, 73920-24, 58242, 76009, 76008 (Pium: 49°50'17.25"O, 10°15'53.07"S); CHUNB
 46088-46118, 58247 (Caseara: 49°57'17.26"O, 9°16'16.67"S); CHUNB 47298 (Ananás: 48°
 4'59.53"O, 6°21'0.02"S); CHUNB 56088, 56090, 56089, 56097, 56086 (Goiatins:
 47°18'50.88"O, 7°42'42.06"S); ZUFG 5449, 5442, 5451, 9805, 9803, 5446, 5437 (Dianópolis:
 46°49'12.70"O, 11°37'32.55"S); CHUNB 28893, 42040 (Mateiros: 46°25'5.13"O,
 10°32'47.65"S); MZUSP 127179-81 (Guaraí: 48°30'42.69"O, 8°50'9.03"S); MNRJ 73000-
 73001 (Muricilândia: 48°50'23.07"O, 6°58'41.87"S); MZUSP 142142 (São Salvador do
 Tocantins: 48°14'11.34"O, 12°44'53.74"S); MNRJ 82401 (Tupiratins: 48°11'58.42"O,
 8°20'0.43"S); MPEG 20618 (Xambioá: 48°31'55.25"O, 6°24'47.12"S).

Suriname: MZUSP 28263-74 (Pleiké: 54°11'0.82"O, 3°6'33.34"N); MZUSP 28262 (Lawa
 River: 54°24'34.56"O, 4°21'8.13"N).

Venezuela: MZUSP 6327 (Duida-Marahuaca: 65°34'14.83"O, 3°37'54.57"N)

Sem procedência: MNRJ 44542-44; CHUNB 38196, MPEG 7696, 7985; MZUSP 110209, 110219, 110215, INPA-H02, 254, 627, 638, 646, 652, 656, 836-40; CHUNB 13793-96, CHUNB 13800, MPEG 10221. INPA-H1402-09; MNRJ 2506; MZUSP 58381, 58382, 6240, INPA-H6244, 6248, 6250, 6251, 6256, 6335, 6336, 6340, 6390. MPEG 10122, 10153, 10135.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho realizamos a revisão taxonômica de *Rhaebo guttatus*. Nossos resultados fornecem um bom entendimento sobre a espécie, até o momento, pouco estudada no Brasil. Fornecemos informações sobre o histórico taxonômico por trás do nome *R. guttatus*, nos permitindo atribuir o distrito de Paramaribo como localidade-tipo exata da espécie. Fornecemos também, informações sobre os nomes atribuídos à espécie (sinonímias) e a situação dos tipos atribuídos à espécie nas coleções. As análises integrativas foram consistentes e nos mostrou que há apenas uma única espécie pertencente ao gênero *Rhaebo* no Brasil. As análises morfométricas nos evidenciou indivíduos amazônicos maiores em tamanho que aqueles indivíduos pertencentes a bacia Tocantins-Araguaia, além de evidenciar o dimorfismo sexual pelo tamanho corporal. Apresentamos pela primeira vez, a sobreposição de nicho climático como uma metodologia eficiente para delimitação de espécies em anfíbios. Por último, apresentamos ainda, uma nova redescritção da espécie, com descrição da osteologia cranial, variação, comparações e padrão de distribuição geográfica no Brasil. Dessa forma, espera-se que este trabalho seja útil na compreensão da taxonomia de *Rhaebo guttatus*, fornecendo informações relevantes que subsidiem futuros estudos com a espécie.