



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ICB

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA – PPGZOOOL

Revisão taxonômica de uma linhagem de *Allobates* Zimmermann & Zimmermann, 1988 pertencente ao complexo *A. albiventris* do sudoeste da Amazônia brasileira

Discente: Carlos Alberto Rodrigues da Silva Junior

Manaus, Amazonas

Setembro/2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS - UFAM
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS - ICB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA – PPGZOO

Revisão taxonômica de uma linhagem de *Allobates* Zimmermann & Zimmermann, 1988 pertencente ao complexo *A. albiventris* do sudoeste da Amazônia brasileira

Discente: Carlos Alberto Rodrigues da Silva Junior

Orientador: Dr. Miquéias Ferrão

Coorientador: Dra. Albertina Pimentel Lima

Dissertação apresentada à Universidade Federal do Amazonas como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre pelo Programa de Pós-Graduação em Zoologia.

Manaus, Amazonas

Setembro/2024

Ficha Catalográfica

Elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S586r Silva Junior, Carlos Alberto Rodrigues da
Revisão taxonômica de uma linhagem de *Allobates Zimmermann & Zimmermann*, 1988 pertencente ao complexo *A. albiventris* do sudoeste da Amazônia brasileira / Carlos Alberto Rodrigues da Silva Junior. - 2024.
65 f. : il., color. ; 31 cm.

Orientador(a): Miquéias Ferrão da Silva Júnior.
Coorientador(a): Albertina Pimentel Lima.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Amazonas, Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Manaus, 2024.

1. Anura. 2. Biodiversidade amazônica. 3. Aromobatidae. 4. Taxonomia integrativa; 5. Rio Juruá. I. Silva Júnior, Miquéias Ferrão da. II. Lima, Albertina Pimentel. III. Universidade Federal do Amazonas. Programa de Pós-Graduação em Zoologia. IV. Título

“Não adentre a boa noite apenas com ternura, a velhice queima e clama ao cair do dia. Fúria, fúria contra a luz que já não fulgura. Embora os sábios, no fim da vida, saibam que é a treva que perdura, pois suas palavras não mais capturam a centelha tardia. Não adentre a boa noite apenas com ternura, fúria, fúria contra a luz que já não fulgura...”

Dylan Thomas, em “Não entre gentilmente nesse boa noite”, de 1952.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer aos meus pais, Itelvina Lopes e Carlos Alberto Rodrigues, que me deram a oportunidade de ter uma nova vida ao me adotarem. Desde então, me amaram e ofereceram todo o suporte necessário para que eu pudesse chegar até aqui. Desde a infância, incentivaram meus estudos, ainda que iniciados tardiamente e me proporcionaram a chance de cursar uma escola técnica, graças ao esforço conjunto e ao trabalho árduo: as vendas diárias de café da manhã e de plantas cultivadas por minha mãe, e os serviços de pintura realizados por meu pai. Peço desculpas por não ter seguido os cursos que desejavam, como Administração ou Engenharia, mas tenho certeza que se orgulham do caminho que trilhei.

Agradeço profundamente aos meus orientadores, Dr. Miquéias Ferrão e Dra. Albertina Lima, pela oportunidade e pela confiança em abrir as portas da pesquisa na área de taxonomia de anfíbios. Com vocês descobri um vasto mundo ainda inexplorado da biodiversidade. Agradeço também pela paciência e dedicação em ensinar um aluno que nunca havia tido experiência com descrição de anuros. A convivência próxima com pesquisadores tão competentes e inspiradores fez com que eu enxergasse a taxonomia como a área em que desejo realmente me especializar e construir minha carreira acadêmica. Se hoje desejo continuar descrevendo espécies, é por causa de vocês. Meu sincero e eterno muito obrigado.

Sou igualmente grato aos meus colegas de laboratório, Silas, Bryan e Anthony, que contribuíram enormemente com seus conhecimentos, experiências e ensinamentos. Sem vocês eu provavelmente nem saberia usar a lupa. Agradeço pelas tabelas compartilhadas, pelos vídeos tutoriais do Bryan sobre o Raven, fundamentais para minhas análises de canto, e à Jussara, pela companhia diária e por compartilhar seu conhecimento sobre o R Studio e os scripts das PCA's. Agradeço também ao Jesus, não o da Bíblia, mas o colega cujos dados e análises foram essenciais para diferenciarmos a espécie aqui descrita. Também ao Saulo, que realizou os testes de PCA. Cada uma dessas colaborações foi crucial para o resultado final deste trabalho.

Meus agradecimentos também ao pesquisador Dr. José Albertino Rafael, por disponibilizar o microscópio de alta resolução utilizado nas análises e fotografias do

Laboratório LESUF. Agradeço aos alunos Daniel e Yanca, que gentilmente me ensinaram a manuseá-lo.

Agradeço ainda à equipe da Coleção de Invertebrados do INPA, pela disponibilização da lupa e do equipamento fotográfico usados nas pranchas ilustrativas. Sou grato aos professores da graduação, em especial à professora Dra. Cristina Sayuri Maki (*in memoriam*), que abriu meus caminhos na pesquisa durante meu primeiro PIBIC. Agradeço também aos professores da pós-graduação e aos colegas que contribuíram, direta ou indiretamente, para esta trajetória.

Expresso meu profundo reconhecimento ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), pelo privilégio de ter integrado seu corpo discente e pelo constante apoio acadêmico e científico durante o desenvolvimento desta pesquisa.

Agradeço ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), onde foram realizadas todas as análises morfológicas, pela estrutura e suporte técnico disponibilizados.

Estendo meus agradecimentos à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), por meio do Programa BIODIVERSA/FAPEAM: C, T&I – Edital nº 007/2021 (concedido à A. P. Lima), pelo financiamento das expedições que possibilitaram a coleta dos espécimes utilizados neste estudo, bem como o desenvolvimento das análises genéticas.

Agradeço, ainda, pela concessão da bolsa de estudos, que garantiu o suporte necessário para a dedicação integral às atividades acadêmicas ao longo desses dois anos (Resolução nº 005/2022 – POSGRAD 2022/2023 – UFAM).

Por fim, mas com imensa importância, agradeço à minha esposa, amiga e companheira, Adriane Abi de Souza Ribeiro, minha maior incentivadora durante todo o mestrado. Sua presença foi essencial, especialmente na reta final desta jornada. Se cheguei até aqui, foi muito por causa de você. Se estivesse sozinho, talvez tivesse desistido. Muito obrigado, de coração.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Distribuição geográfica das populações de <i>Allobates</i> sp. nov.-----	17
Figura 02: Relações entre PCA1 e PCA2 inferidas por Análises de Componentes Principais baseadas em 17 razões morfométricas de machos de <i>Allobates</i> sp. nov., nas cinco comunidades de coleta. -----	23
Figura 03: Contribuições das 17 razões morfométricas em machos de <i>Allobates</i> sp. nov. e <i>A. albiventris</i> no eixo PCA1. -----	24
Figura 04: Contribuições das 17 razões morfométricas em machos de <i>Allobates</i> sp. nov. e <i>A. albiventris</i> no eixo PCA2. -----	25
Figura 05: Relações entre PCA1 e PCA2 inferidas por Análises de Componentes Principais baseadas em 17 razões morfométricas de machos de <i>Allobates</i> sp. nov. e <i>A. albiventris</i> -----	26
Figura 06: Relações filogenéticas do clado <i>Allobates caeruleodactylus</i> com base em 3.706 pares de bases de três genes mitocondriais (16S, COI e CYTB) e dois nucleares (RAG1 e TYR)-----	28
Figura 07: Vistas dorsais, ventrais e laterais do macho holótipo AP23551 (A–C) e fêmea parátipo APL23449 (D–F) de <i>Allobates</i> sp. nov-----	35
Figura 08: Vistas ventrais da mão e pé do macho holótipo APL23551 (a, c) e fêmea parátipo APL23549 (b, d) de <i>Allobates</i> sp. nov-----	36
Figura 09: Coloração de <i>Allobates</i> sp. nov. em vida: A-C: APL23414; D-F: APL23642; G-H: APL23619; I-J: APL23629; K-L: 23620; M: APL23435 -----	38
Figura 10: Variação de cor da série tipo em preservativo: A-C: APL619; D-F: APL23628; G-I: APL23645; J-L: APL23674. -----	40
Figura 11: Canto de anúncio de <i>Allobates</i> sp. nov. (APL23645).-----	44
Figura 12: Relações entre PCA1 e PCA2 inferidas por Análises de Componentes Principais baseadas em 11 parâmetros acústicos de cantos de anúncio de machos de <i>Allobates</i> sp. nov. e <i>A. albiventris</i> .-----	50
Figura 13: História natural de <i>Allobates</i> sp. nov. -----	51
Figura 14: Registros fotográficos de machos de <i>Allobates</i> sp. nov., em vida em seu habitat natural. -----	52
Figura 15: Girino de <i>Allobates</i> sp. nov. coletados em Eiru (lote APL23699), estágio 36 de Gosner.-----	55

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: - Medidas morfométricas de <i>Allobates</i> sp. nov. e <i>A. albiventris</i> .-----	42
Tabela 2: Medidas acústicas de <i>Allobates</i> sp. nov-----	46
Tabela 3: Medidas morfométricas de 28 girinos de <i>Allobates</i> sp. nov., estágio Gosner 31, 33, 34, 36, 37, de Eiru, Eirunepé – Amazonas. -----	57

Revisão taxonômica de uma linhagem de *Allobates* Zimmermann & Zimmermann, 1988 pertencente ao complexo *A. albiventris* do sudoeste da Amazônia brasileira

Carlos Alberto Rodrigues¹, Miquéias Ferrão², Albertina Pimentel Lima³

1 Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Av. Rodrigo Octávio 6200, 69077-000, Manaus, Amazonas, Brasil. E-mail: carsj.rodri@gmail.com

2 Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Répteis e Anfíbios, Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade, Edifício IBAMA, rua 229, nº 95, 74605-090, Goiânia, Goiás, Brasil.: e-mail: uranoscodon@gmail.com

3 Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Av. André Araújo 2936, 69011-970, Manaus, Amazonas, Brasil. E-mail: albertina.lima59@gmail.com

RESUMO

A rãzinha enfermeira *Allobates albiventris* foi descrita recentemente e habita florestas de terras baixas no sudoeste da Amazônia brasileira. Estudos filogenéticos recentes indicaram que esta espécie representa na verdade um complexo de espécies com várias linhagens não nomeadas associadas a espécie nominal na Amazônia central e sudoeste do Brasil, e provavelmente na Bolívia e no Peru. Taxonomia integrativa foi usada no presente estudo para revisar uma dessas linhagens na Bacia do médio rio Juruá, no Brasil. Nossa inferência filogenética multilocus recuperou a nova espécie na posição mais basal dentro do clado que representa o complexo de espécies *A. albiventris*. A nova espécie difere da maioria de suas congêneres por ter um chamado composto por um par de notas emitidas em uma única exalação, tal padrão de chamado é relatado dentro do clado *A. caeruleodactylus* apenas para *A. albiventris*. O canto de anúncio da nova espécie é caracterizado por ter duração de 50 ± 3 ms (43–56 ms), a primeira nota (13 ± 3 ms) mais curta que a segunda (19 ± 3 ms), onde a primeira nota tem uma frequência dominante de

5.215 ± 138 Hz (4.907–5.440 Hz) e a segunda nota 5.541 ± 160 Hz (5.290–5.825 Hz). Os adultos têm dorso tuberculado a granuloso, SVL de $16,4 \pm 0,57$ mm nos machos e $17,3 \pm 0,4$ mm nas fêmeas, dedos II e III inchados nos machos, e saco vocal branco sem melanóforos. Os girinos têm de duas a quatro papilas curtas e arredondadas distribuídas em uma única fileira em cada margem lateral do lábio anterior; comprimento relativo das fileiras de dentes $P2 > P1 > P3$ ($P1 = 0,93 \pm 0,10$ mm; $P2 = 0,91 \pm 0,06$ mm; e $P3 = 0,90 \pm 0,15$ mm).

Palavras-chave. Anura; Biodiversidade amazônica; Aromobatidae; Taxonomia integrativa; Rio Juruá; Rãzinhas cuidadoras.

ABSTRACT

The nurse frog *Allobates albiventris* was recently described and inhabits lowland forests in Brazilian southwestern Amazonia. Recent phylogenetic studies have indicated that this species indeed represent a species complex with several unnamed lineages associated with it across southwestern and central Amazonia in Brazil and probably in Bolivia and Peru. Integrative taxonomy was used in the present study to revise one of these lineages from middle Juruá Basin in Brazil. Our multilocus phylogenetic inference recovered the new species in the most basal position within the clade representing the *A. albiventris* species complex. The new species differs from most congeners by having a call composed of a pair of notes emitted in a single exhalation, such call pattern is a reported within the *A. caeruleodactylus* clade only for *A. albiventris*. The advertisement call of the new species is characterized by a call duration of 50 ± 3 ms (43–56 ms), first note (13 ± 3 ms) shorter than the second (19 ± 3 ms); the first note has a dominant frequency of $5,215 \pm 138$ Hz (4,907–5,440 Hz) and the second note $5,541 \pm 160$ Hz (5,290–5,825 Hz). Adults have a tuberculate to granulate dorsum, SVL 16.4 ± 0.57 mm in males and 17.3 ± 0.4 mm in females, fingers II and III swollen in males, a white vocal sac without melanophores. Tadpoles have two to four short, rounded papillae distributed in a single row on each lateral margin of the anterior lip; relative length of the tooth rows $P2 > P1 > P3$ ($P1 = 0.93 \pm 0.10$ mm; $P2 = 0.91 \pm 0.06$ mm; and $P3 = 0.90 \pm 0.15$ mm).

Keywords. Anura; Amazonian biodiversity; Aromobatidae; Integrative taxonomy; Juruá River; Nurse frogs.

Sumário

Introdução	13
Objetivos	15
Objetivo Geral.....	15
Objetivos específicos	15
Materiais e métodos	15
Áreas de estudos e amostragem	15
Morfologia de adultos	18
Morfologia de girinos.....	18
Dados bioacústicos.....	19
Análise morfológica	21
Resultados	22
Diferenciação morfológica entre as populações das cinco localidades	22
Diferenciação morfológica entre <i>A. albiventris</i> e <i>Allobates</i> sp. nov.	24
Relações filogenéticas e distâncias genéticas.....	27
Taxonomia.....	28
Holótipo.....	29
Parátipos.....	29
Etimologia.....	29
Alocação genérica	29
Caracterização de <i>Allobates</i> sp. nov.....	30
Comparações interespecíficas	32
Descrição do holótipo	33
Coloração de adultos em preservativo	35
Coloração de adultos em vida	37
Variação da coloração da série tipo	38
Variação morfológica dos parátipos	40
Vocalização.....	44
Comparação bioacústica.....	48
Distribuição e história natural	50
Descrição do Girino	53
Comparações entre Girinos	56
Financiamento	61
Referências	62

Introdução

Existe um total de 7.713 espécies de anuros distribuídos em todo mundo, sendo que o Brasil contém 1.139 espécies catalogadas (Segalla *et al.* 2024, AmphibianWeb 2024), destas 383 espécies foram catalogadas para a Amazônia brasileira (Hoogmoed 2024). Este é um número expressivo, no entanto, um estudo recente focado principalmente na porção norte da Amazonia estimou através de dados moleculares que aproximadamente 800 espécies ocorrem na região (Vacher *et al.* 2020). Extrapolando para toda a Amazônia, o estudo sugere que até 2.000 espécies podem ocorrer na região (Vacher *et al.* 2020). A diferença entre o número de espécies nominais e o estimado representa, em grande parte, espécies ainda não nomeadas aguardando serem descritas.

Muitos avanços vêm sendo feitos no conhecimento taxonômico sobre anuros amazônicos. Parte deste avanço se deve a ampla utilização de taxonomia integrativa, que se define como a integração de linhas independentes de evidências (e.g., dados moleculares, morfológicos, comportamentais e acústicos) na delimitação de entidades taxonômicas (Padial *et al.* 2010). Seu uso tem se mostrado fundamental para a descoberta e descrição de espécies crípticas (e.g., Lima *et al.* 2020, Ferrão *et al.* 2022). Outra parte importante dos avanços se deve a amostragem crescente de áreas tidas anteriormente como de difícil acesso ou pouco exploradas (Sturaro e Peloso 2014, Ferrão *et al.* 2016, Fouquet *et al.* 2021). Considerando o fato de que grande parte das espécies tidas como amplamente distribuídas na Amazônia compreendem complexos de espécies crípticas (Vacher *et al.* 2020) e que em torno de 40% da região nunca foi explorada (Hortal *et al.* 2015), espera-se ainda para as próximas décadas grandes avanços na taxonomia de anuros Amazônicos.

Tais avanços já são evidentes em alguns grupos de anuros Amazônicos, como por exemplo as rãzinhas cuidadoras do gênero *Allobates* Zimmermann & Zimmermann, 1988 (Lima *et al.* 2020, Souza *et al.* 2020, Ferrão *et al.* 2022b). Este gênero contém 63 espécies descritas até o momento, distribuídas entre Bolívia, Brasil, Colômbia, Equador, Nicarágua, Peru, Suriname, Venezuela e guianas (Frost 2024). Ao menos 40 espécies nominais ocorrem na Amazônia brasileira (Hoogmoed 2024), 15 das quais descritas na última década (Frost 2022). Essa riqueza de espécies continuará crescendo, uma vez que estudos recentes têm apontado que algumas destas espécies tidas como amplamente distribuídas na Amazônia representam na verdade complexos de espécies, como por exemplo, *A. tinae* (Lima *et al.* 2020), *A. tapajos* (Ferrão *et al.* 2022a) e *A. gasconi* (Vacher

et al. 2020). *A. gasconi* foi uma das onze espécies descritas, a partir de treze caracteres morfológicos por Morales (2002). Desde então se iniciou uma problemática taxonômica, pois Grant *et al.* (2006), referendou amostras de Porto Walter, no Rio Ituxi, como *A. gasconi* sensu stricto, por estarem próximos do local-tipo. No entanto, foi constatado diferenças em amostras genéticas das bacias do Rio Ituxi e Juruá, representando diferenciação nas duas linhagens (Simões *et al.* 2013), sendo que as amostra de Juruá, foram próximas ao local-tipo. Lima *et al.* (2014) sequenciou amostras da bacia do Juruá, próximo ao local-tipo, e de amostras de Porto Walter, que não se mostraram monofiléticos, dando indícios de equívocos taxonômicos. Em concordância com esses estudos, Melo-Sampaio *et al.* (2018) indicou inconsistências na série-tipo de *A. gasconi*, de amostras do Acre e Amazonas, com diferenças fenotípicas em relação ao holótipo. Na filogenia de Réjaud *et al.* (2020), *A. gasconi* foi relacionado dentro do clado *A. caerulodactylus*. Por fim, Vacher *et al.* (2020) sequenciaram novos indivíduos do alto rio Madeira (Porto Velho, Rondônia) atribuídos a *A. gasconi* e mostraram por meio de análise molecular barcoding que *A. gasconi* representa na verdade um complexo de espécies.

Recentemente, Ferreira *et al.* (2023) analisaram dados morfológicos, acústicos e moleculares de *Allobates gasconi* (Morales 2002) obtidos na localidade tipo (Jainú Esquerdo) e três localidades paratípicas (Jainú Direito, Altamira e Vai-Quem-Quer). Por meio de taxonomia integrativa, mostraram que as linhagens referidas por Grant *et al.* (2006), Lima *et al.* (2014), Melo-Sampaio *et al.* (2018) e Vacher *et al.* (2020) representam linhagens dentro do clado *A. caeruleodactylus*, enquanto a linhagem composta por indivíduos topotípicos de *Allobates gasconi* pertence ao clado *A. trilineatus* (Réjaud *et al.* 2020). Portanto, o complexo de espécies atribuído anteriormente a *A. gasconi* na verdade é majoritariamente composto por espécies ainda não descritas, com exceção de *Allobates albiventris* (Souza *et al.* 2023) que foi descrito pouco antes da redescrição de *A. gasconi* (Ferreira *et al.* 2023).

Durante expedição ao longo do médio rio Juruá em janeiro de 2021, mais adultos desta linhagem, bem como cantos de anúncio e girinos, foram coletados em diversos pontos de florestas de *terra firme*. A descrição desta nova espécie (*Allobates* sp. papo branco, que a partir deste ponto será referido como *A. sp. nov.*) é proposta na presente dissertação. Para facilitar a compreensão, o complexo de espécies ao qual *Allobates* sp. nov. papo branco faz parte será chamado de complexo '*Allobates albiventris*.' ao longo da presente dissertação.

Objetivos

Objetivo Geral

Descrever e nomear uma nova espécie de rãzinha cuidadora do clado *A. caeruleodactylus* e dentro do complexo *Allobates albiventris* com distribuição no médio rio Juruá através da integração de dados morfológicos, bioacústicos, moleculares e comportamentais

Objetivos específicos

1 – Descrever a morfologia externa de adultos de *Allobates* sp. nov. do médio rio Juruá e usar as medidas morfométricas para testar se existe diferença de outras espécies do complexo *Allobates albiventris*.

2 – Descrever o canto de anúncio de *Allobates* sp. nov. e usar os parâmetros acústicos pra testar se existe diferenças de outras espécies do complexo *Allobates albiventris*.

3 – Descrever as características das desovas e dos girinos de *Allobates* sp. nov. diferenciando-as de outras espécies de *Allobates*.

4 – Inferir as relações filogenéticas de *Allobates* sp. nov. em relação as outras espécies de *Allobates*.

Materiais e métodos

Áreas de estudos e amostragem

A coleta de dados foi realizada na estação chuvosa entre os meses de fevereiro e março de 2021. Adultos de *Allobates* sp. nov. foram coletados em cinco localidades na bacia do médio rio Juruá, Amazonas, Brasil (Figura 1). Comunidade de Eiru, localizado próximo a margem oeste do rio Eiru, afluente da bacia do Juruá, (6.938055 S, 70.044166 W). Outra na margem leste do rio Gregório, próximo a Comunidade Zacarias (6.876111 S, 70.64250 W), e outras três na margem leste do rio Juruá (Comunidade São João, 6.783888 S, 70.0055 W; Comunidade Vila União, 6.829562 S, 70.549401 W; e Altamira, 6.583381 S, 68.900016 W). Girinos provenientes de duas desovas foram coletados na Comunidade de Eiru e foram criados em laboratório até atingirem os estágios de

desenvolvimento larval usualmente utilizados na descrição de girinos de *Allobates* (estágios 30–38).

Adultos foram mortos com solução tópica de benzocaína (0,2 mg/g) e girinos por superdosagem de benzocaína (0,2 mg/g) diluída em água. Amostras de tecido muscular foram coletadas e preservadas em álcool etílico absoluto. Indivíduos adultos foram fixados em formol 10% e posteriormente armazenados em álcool etílico 70%, enquanto girinos foram fixados e conservados em formalina 5%. Adultos e girinos serão depositados nas coleções herpetológicas do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA-H; Manaus, Amazonas, Brasil) e Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG; Belém, Pará, Brasil). Amostras de tecido serão armazenadas na Coleção de tecidos do INPA.

Vocalizações foram gravadas com gravadores digitais TASCAM DR-40 e Marantz PMD660 com microfone direcional Sennheiser K6/ME66. Os microfones foram posicionados a aproximadamente 1 m de distância do macho focal. A temperatura do ar no momento da gravação foi aferida através de termômetro digital posicionado logo acima da camada de serrapilheira. As gravações foram arquivadas em formato WAV, com 44.1 kHz e 16 bits de resolução. Estas serão depositadas na Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard da Universidade de Campinas (UNICAMP), Campinas, Brasil.

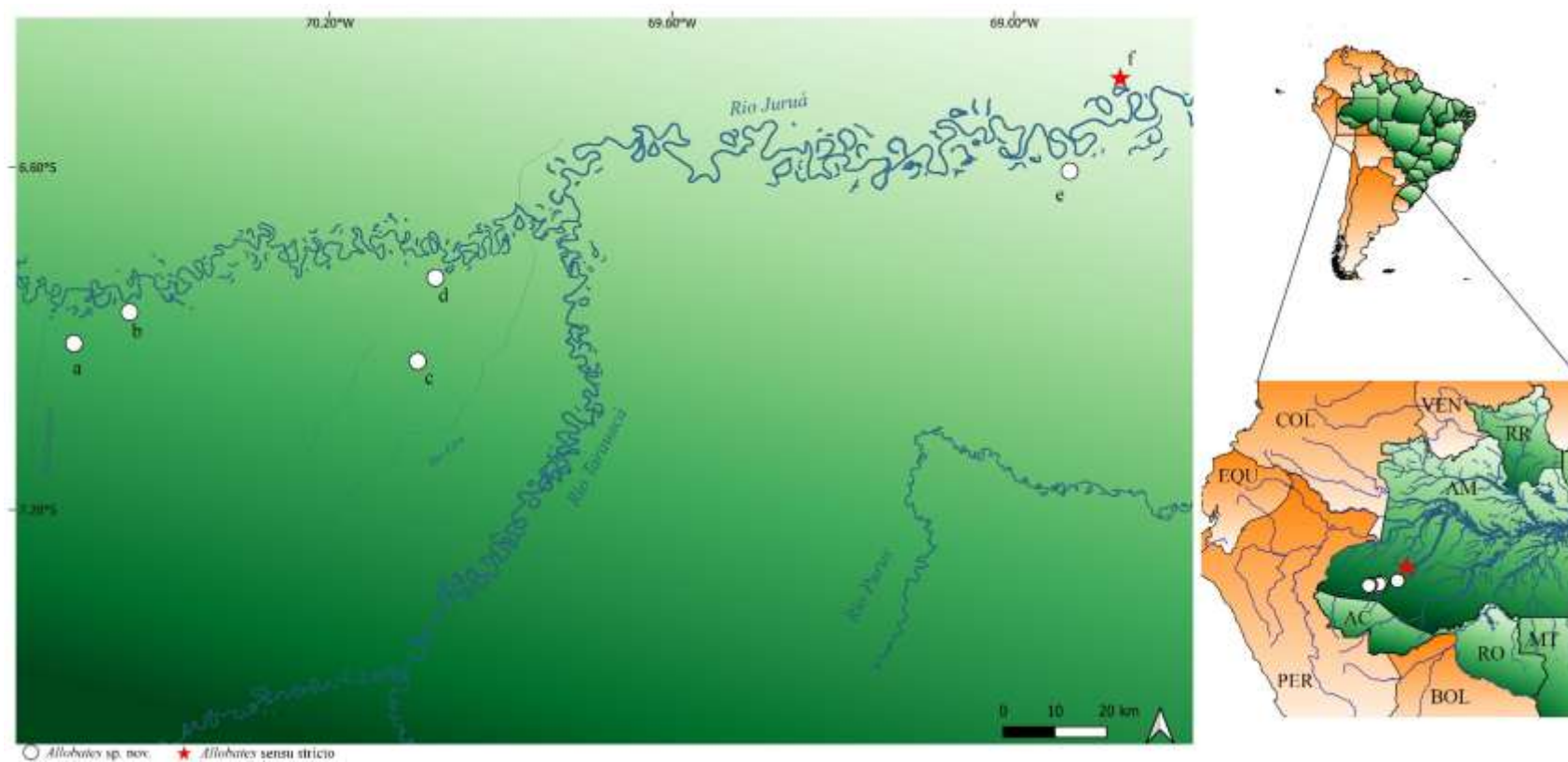


Figura 1. Distribuição geográfica das populações de *Allobates* sp. nov (a: Comunidade Zacarias; b: Comunidade Vila União; c: Comunidade Rio Eiru; d: Comunidade São João; e: Altamira; f: localidade tipo de *A. gasconi* sensu stricto).

Morfologia de adultos

Foram analisados 44 indivíduos adultos de *Allobates* sp. nov. provenientes de Altamira (10 machos e 2 fêmeas), Comunidade de Eiru (7 machos e 1 fêmea), Comunidade Zacarias (5 machos e 2 fêmeas), Comunidade São João (6 machos), Comunidade Vila União (8 machos e 3 fêmeas). O sexo foi confirmado através da observação direta da presença/ausência de saco vocal e abertura vocal (presentes em machos e ausentes em fêmeas). Fêmeas foram coletadas durante a corte para evitar atribuições errôneas de fêmeas de outras espécies de *Allobates* à espécie focal.

As medidas morfométricas foram aferidas com um micrômetro acoplado a um microscópio estereoscópico. Trinta e seis medidas morfométricas foram tomadas em cada indivíduo, as siglas estão em inglês, sendo traduzidas para o português: comprimento rostro-cloacal (SVL); comprimento da cabeça (HL); distância interorbital (IO); largura da cabeça (HW); comprimento do focinho (SL); distância do olho à narina (END); distância entre narinas (IN); comprimento horizontal do olho (EL); diâmetro horizontal do tímpano (TYM); comprimento do antebraço (FAL); comprimento do braço (UAL); comprimento do fêmur (coxa) (THL); comprimento da tíbia (TL); comprimento do pé (FL); comprimento da mão da borda proximal do tubérculo palmar até a ponta do dedo I (HAND I), dedo II (HAND II), dedo III (HAND III) e dedo IV (HAND IV); largura do disco no dedo I da mão (WFD I); dedo II (WFD II); dedo III (WFD III); dedo IV (WFD IV); diâmetro do tubérculo palmar (DPT); largura do tubérculo tenar (WTT); largura do dedo I da mão (WPF I); dedo II (WPF II); dedo III (WPF III); dedo IV (WPF IV); largura do disco no dedo I do pé (WTD I); dedo II (WTD II); dedo III (WTD III); dedo IV (WTD IV); largura do inchaço do dedo II logo abaixo ao tubérculo basal (LI2I); largura do inchaço do dedo II logo acima ao tubérculo basal (LI2S); largura do dedo III (LI3S) logo acima do tubérculo subarticular proximal; largura do dedo III (LI3I) logo abaixo do tubérculo subarticular proximal. Três medidas foram analisadas para ausência e presença: franja metacarpal (MR); faixa basal mão (FBM), estrutura translúcida, lateral nas mãos e nos pés (FBP). Terminologias, caracteres diagnósticos e definições de medidas seguem Caldwell e Lima (2003), Grant *et al.* (2006) e Lima *et al.* (2007)

Morfologia de girinos

Os estágios de desenvolvimento dos girinos foram determinados de acordo com Gosner (1960). Dezesete medidas morfométricas foram aferidas com um micrometro

acoplado a um microscópio estereoscópico, sendo elas: (TL) comprimento total; (BL) comprimento do corpo; (TAL) comprimento da cauda; (BH) altura do corpo; (DMH) altura da membrana dorsal; (VMH) altura da membrana ventral; (TMH) altura da musculatura da cauda; (VTL) comprimento do tubo anal; (ESD) distância olho-focinho; (NSD) distância narina-focinho; (ED) diâmetro do olho; (ND) diâmetro da narina; (END) distância olho – narina; (STL) comprimento do espiráculo; (SW) largura do espiráculo; (WOS) largura da abertura do espiráculo; (SH) altura do espiráculo; (MTH) largura da cauda; (BW) largura do corpo; (TMW) largura da musculatura da cauda; (IOD) distância interorbital; (IND) distância internasal; (OD) largura do disco oral; (AL) lábio anterior; (PL) lábio posterior; (A2-GAP) gap medial na segunda fileira de dentes anteriores; (A1) primeira fileira de dentes anteriores; (A2) segunda fileira de dentes anterior; (MP) papila marginal; (P1) primeira fileira de dentes posterior; (P2) segunda fileira de dentes posterior; (P3) terceira fileira de dentes posterior; (LP) processo lateral; (LJ) bainha da mandíbula superior; (UJ) bainha da maxila superior. Caracteres diagnósticos e medidas morfométricas seguem McDiarmid e Altig (1999) e Sánchez (2013).

Dados bioacústicos

Cantos de anúncio de 21 machos de *Allobates* sp. nov. provenientes de Altamira (n = 2), Comunidade de Eiru (n = 6), Comunidade Zacarias (n = 4), Comunidade São João (n = 4) e Comunidade Vila União (n = 5) foram analisados. A análise dos cantos foi realizada com o RAVEN 1.6.5 (Bioacoustics Research Program 2024). Os seguintes parâmetros bioacústicos foram mensurados em, no mínimo, 7 cantos de cada macho gravado: duração do canto (DC); duração da primeira nota (DN1); duração da segunda nota (DN2); duração do intervalo entre as notas (IN); duração do intervalo entre os cantos (IC); frequência dominante da primeira (FDN1) e segunda (FDN2) nota; frequência baixa da primeira e segunda nota (FBN1 e FBN2) frequência alta da primeira e segunda nota (FAN1 e FAN2). Os parâmetros acústicos foram medidos no Raven pro 1.6.3. com a seguinte configuração: Janela Blackman = 2.048 amostras e largura de banda do filtro de 3 dB = 82 Hz. A descrição e terminologia para descrição canto segue a abordagem centrada na nota, proposta por Köhler *et al.* (2017).

Obtenção e análise de dados genéticos

DNA genômico total foi extraído de tecido muscular de 15 indivíduos de *Allobates* sp. nov. provenientes de Altamira (n = 1), rio Eiru (n = 5), Comunidade Zacarias (n = 3), Comunidade São João (n = 1) e na Comunidade Araçazal (n = 3). O DNA foi extraído através do kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega, Madison-WI, E.U.A.) seguindo as recomendações do fabricante. Fragmentos do gene mitocondrial 16S rRNA foram amplificados por meio de reação de cadeia polimerase (PCR) utilizando os primers universais 16sar (5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3') e 16sbr (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3') descritos por Palumbi (1996). Os protocolos de PCRs e sequenciamento seguiram Maia *et al.* (2017). Sequências foram checadas e editadas manualmente no Geneious 5.3.4 (Kearse *et al.* 2012) e posteriormente depositadas no GenBank com numeração de acesso XXXXXX. A obtenção dos dados moleculares foi conduzida no Laboratório Temático de Biologia Molecular do INPA.

Adicionalmente, amostras de DNA de espécimes de outras linhagens do complexo *Allobates albiventris* foram sequenciadas para melhor suportarem as relações filogenéticas dentro do complexo. Sequências representativas de espécies nominais e candidatas de outros *Allobates* do clado *A. caeruleodactylus* foram baixadas do GenBank. Maior foco será dado as sequências dos representantes que compõem o complexo de espécies *A. gasconi*. Além disto, sequências representativas dos gêneros a serem utilizados como grupos externos (*Ameerega*, *Anomaloglossus*, *Aromobates*, *Colostethus*, *Dendrobates*, *Epipedobates*, *Leucostethus*, *Mannophryne*, *Phyllobates*, *Rheobates* e *Silverstoneia*). Para cada gene, sequências serão alinhadas através da implementação online do MAFFT 7 (Kato e Standley 2013); a estratégia G-INS-i será utilizada para alinhar sequências dos genes codificadores de proteína e a estratégia E-INS-i será utilizada para genes não codificados. Os alinhamentos resultantes serão unificados através do programa Mesquite 3.04 (Maddison e Maddison 2015).

Os modelos de evolução nucleotídica e esquemas de partições serão inferidos através do PartitionFinder v. 1.1.1 (Lanfear *et al.* 2017) por meio do critério de inferência Bayesiana e do algoritmo “greedy” para as buscas (Guindon *et al.* 2010). As relações filogenéticas serão inferidas através de máximo verossimilhança no IQ-TREE (Trifinopoulos *et al.* 2016). Os suportes dos cladogramas serão calculados através de 10.000 bootstraps ultra-rápidas (Hoang *et al.* 2018), 10.000 iterações máximas, e 0.99 de coeficiente de correlação mínimo. Serão mensuradas distâncias genéticas interespecíficas

não corrigida (distância p) e Kimura-2-Parâmetros (Kimura 1980) para o 16S por meio do MEGA 6.0 (Tamura *et al.* 2013).

Análise morfológica

Allobates albiventris (Souza *et al.* 2023) é a única espécie descrita do complexo *A. albiventris* até o momento. Devido à proximidade filogenética e similaridade morfológica, usamos 17 razões morfométricas de machos (HW/HL; HL/SVL; HW/SVL; UAL/SVL; FAL/SVL; HAND3/SVL; TL/SVL; THL/SVL; SL/HL; EL/HL; TYM/EL; HAND3/UAL; END/EL; THL/TL; FL/TL; FL/THL; IN/HW) sumarizadas em dois eixos por uma Análise de Componentes Principais (PCA), para investigar se *A. albiventris* (Souza *et al.* 2023) e *Allobates* sp. nov. diferem morfológicamente. A partir das razões morfométricas usadas, realizamos uma MANOVA para testar se as características morfológicas sumarizadas pelos dois primeiros eixos da PCA (PCA1 e PCA2) diferem significativamente entre *A. albiventris* e *Allobates* sp. nov. Aplicamos os mesmos procedimentos para avaliar se as populações provenientes das cinco localidades — Eiru, São João, Altamira, Vila União e Zacarias — apresentam diferenças morfológicas significativas, buscando esclarecer possíveis padrões de divergência entre essas populações.

Comparações interespecíficas

Para o presente estudo, direcionamos as comparações morfológicas e bioacústicas para as linhagens de *Allobates* presentes na Amazônia brasileira e que possuem coloração marrom com faixa lateral marrom escura e menores que 24 mm, totalizando 20 espécies descritas até o momento: *Allobates bacurau* Simões, 2016; *A. caeruleodactylus* (Lima e Caldwell 2001); *A. conspicuus* (Morales 2002); *A. flaviventris* Melo-Sampaio, Souza, e Peloso, 2013; *A. fuscus* (Morales 2002); *A. gasconi* (Morales 2002); *A. grillisimilis* Simões, Sturaro, Peloso, e Lima, 2013; *A. grillicantus* Moraes e Lima, 2021; *A. kamilae* Ferrão, Hanken, e Lima, 2022; *A. nidicola* (Caldwell e Lima 2003); *A. nunciatus* Moraes, Pavan, e Lima, 2019; *A. pacaas* Melo-Sampaio, Prates, Peloso, Recoder, Vechio, Marques-Souza, e Rodrigues, 2020; *A. paleci* Silva, Marques, Folly, e Santana, 2022; *A. paleovarzensis* Lima, Caldwell, Biavati, e Montanarin, 2010; *A. subfolionidificans* (Lima, Sanchez, e Souza, 2007); *A. tapajos* Lima, Simões, e Kaefer, 2015; *A. tinae* Melo-Sampaio, Oliveira, e Prates, 2018; *A. trilineatus* (Boulenger 1884); *A. vanzolinius* (Morales 2002) e *A. velocicantus* Souza, Ferrão, Hanken, e Lima, 2020.

Resultados

Diferenciação morfológica entre as populações das cinco localidades

Ao sumarizar as 17 razões morfométricas, em eixos PCA1 e PCA2, as cinco localidades não tiveram um valor- $p \leq 0.05$, pois por convenção, esse valor significa que haveria menos de 5% de probabilidade de que os resultados observados tenham ocorrido por acaso, e assumiria a hipótese de que poderia existir diferenciação morfológica entre as populações das cinco localidades e realizamos testes sem Altamira, pois essa localidade, tem apresentado diferenças em vários aspectos de análises, e decidimos verificar seu impacto. Ao analisar as cinco localidades juntas (Altamira, Vila União, São João, Eiru e Zacarias), por meio de MANOVA (Pillai = 0.4149, $F = 1.8979$, $DF = 8.58$, $p = 0.078$), foi observado que o valor- p se aproxima de 0.05, e quando retiramos a localidade de Altamira, o teste MANOVA (Pillai = 0.2515, $F = 1.0071$, $DF = 6.42$, $p = 0.434$), o valor- p aumenta, corroborando que não há diferenças significativas entre as populações das cinco localidades. Foi plotado dois gráficos, com e sem a presença de Altamira, do PCA1 contra o PCA2, que representam a sumarização das 17 razões, usando o erro padrão como centroide (Fig. 2).

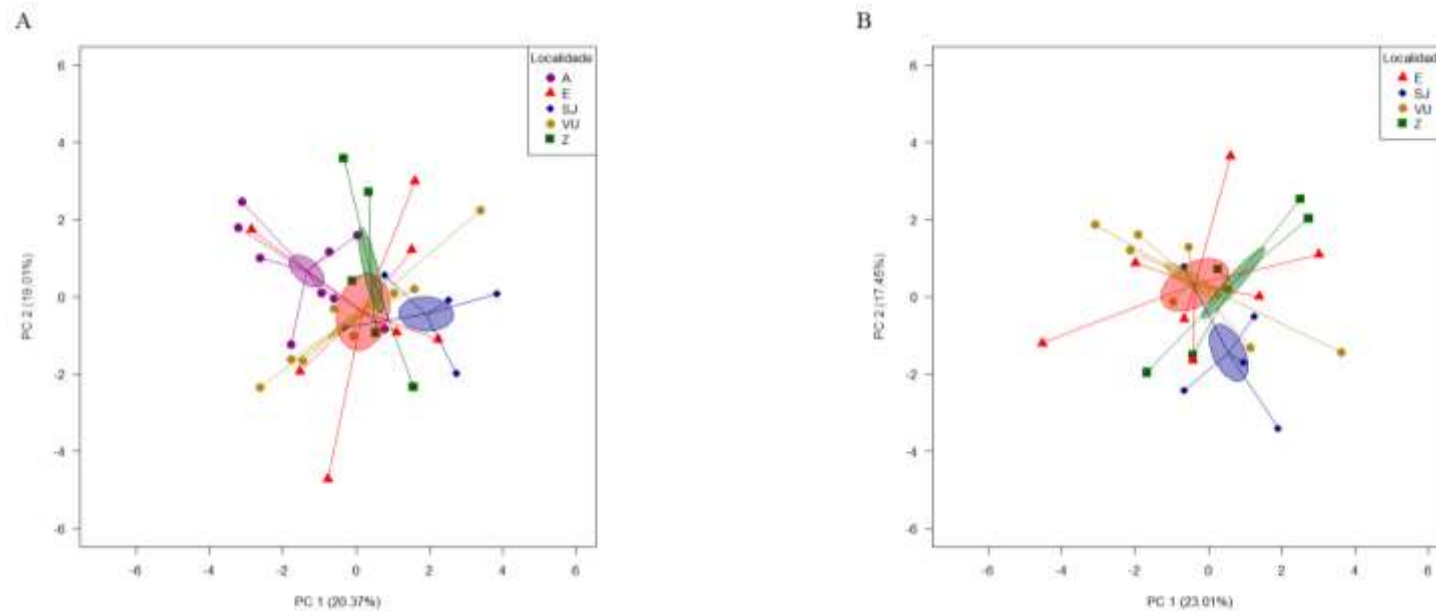


Figura 2. Abreviações referem-se a cada comunidade de coleta: A= Altamira; E= Eiru; SJ= São João; VU= Vila União; Z= Zacarias. Relações entre PCA1 e PCA2 inferidas por Análises de Componentes Principais baseadas em 17 razões morfométricas de machos de *Allobates* sp. nov., nas cinco comunidades de coleta. (A) Relação entre PCA1 e PCA2 nas comunidades de Altamira; Eiru; São João; Vila União; Zacarias. (B) Relação entre PCA1 e PCA2 sem a Comunidade Altamira. Elipses significam erro padrão com intervalo de confiança = 95%. Os pontos com as linhas representam as distâncias de cada indivíduo em relação ao centroide.

Diferenciação morfológica entre *A. albiventris* e *Allobates* sp. nov.

Os dois eixos juntos explicaram 54,72% da variância (PC1 = 40.26% e PC2 = 14.47%). As razões com maior contribuição no eixo PCA1 foram: HW/SVL (0.9075); THL/SVL (0.8709); HW/HL (0.8396) (Fig. 3). Para a PCA2 foram: EL/HL (0.7325); SL/HL (0.5510); FL/TL (0.4249) (Fig. 4). Nos gráficos abaixo (Figs. 3 e 4), é possível visualizar a variação de cada razão nos eixos PCA's, a partir dos “loadings”.

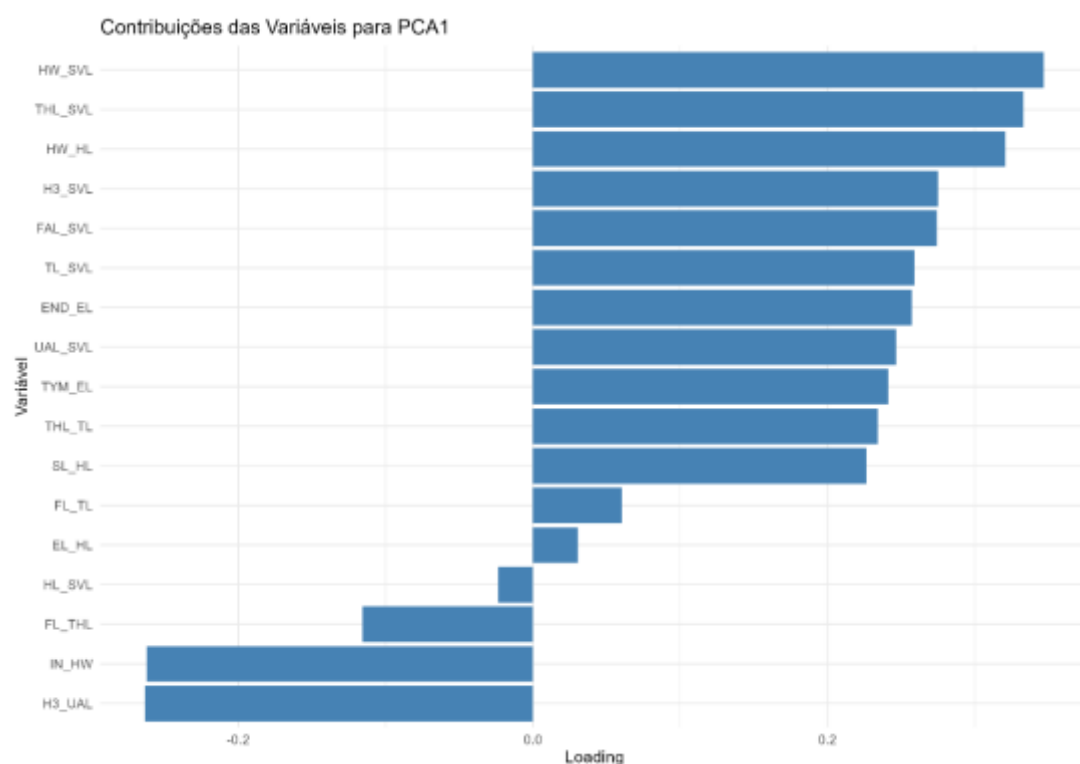


Figura 3. Contribuições das 17 razões morfométricas, em ordem decrescente, em machos de *Allobates* sp. nov., e *A. albiventris*, no eixo das Análises de Componentes Principais (PCA1). Abreviações: H3= HAND3; as outras abreviações das razões morfométricas encontram-se na metodologia.

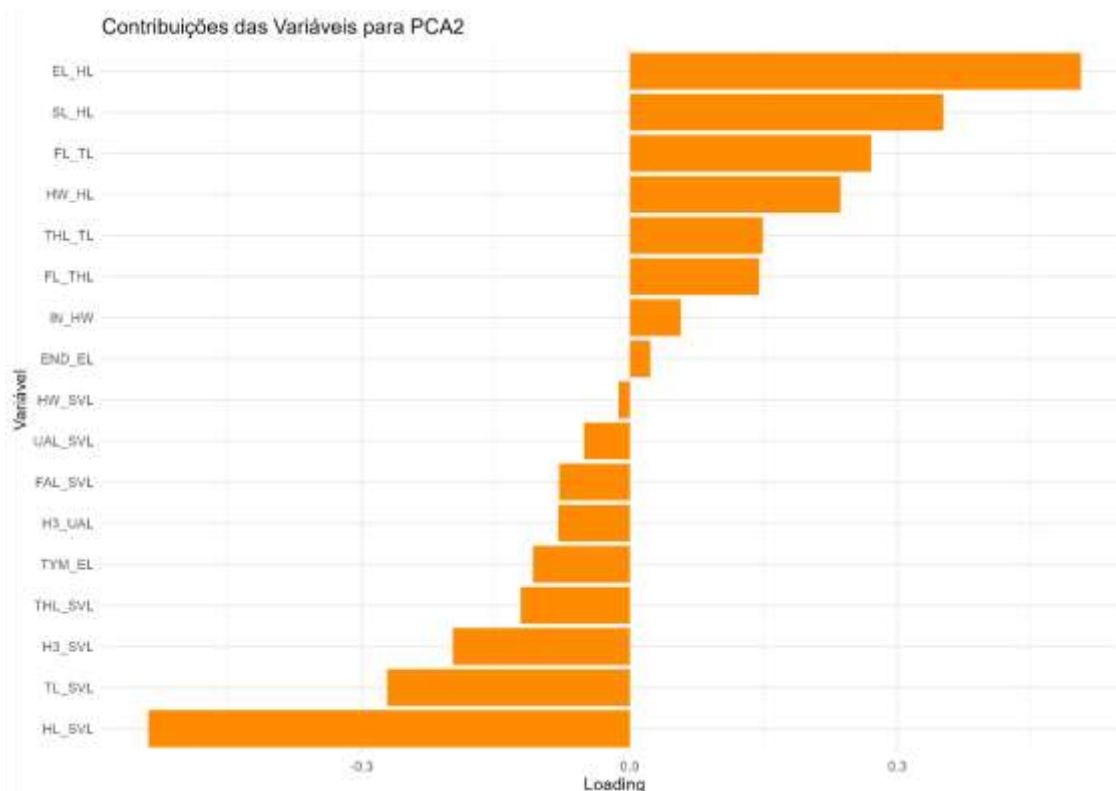


Figura 4. Contribuições das 17 razões morfométricas, em ordem decrescente, em machos de *Allobates* sp. nov., e *A. albiventris*, no eixo das Análises de Componentes Principais (PCA2). Abreviações: H3= HAND3; as outras abreviações das razões morfométricas encontram-se na metodologia.

Quando a contribuição (“loadings”) de uma variável para um componente principal (PCA) é negativa, como observado na PCA1 (Fig. 3): HAND3/UAL = -0.6886; IN/HW = -0.6864; FL/THL = -0.3024; HL/SVL = -0.0616; e para PCA2 (Fig. 4): TYM/EL = -0.1690; HAND3/UAL = -0.1249; UAL/SVL = -0.0799; THL/SVL = -0.1909; TL/SVL = -0.4254; H3/SVL = -0.3104; FA/SVL = -0.1236; HW/SVL = -0.0195; HL/SVL = -0.8450, isso indica que a variável tem uma relação inversa com o componente principal, portanto, à medida que o valor do componente principal aumenta, o valor da variável tende a diminuir, e vice-versa. Para PCA1, as variáveis HAND3/UAL e IN/HW têm contribuições negativas fortes, sugerindo que, quando PCA1 aumenta, essas medidas tendem a diminuir. As variáveis FL/THL e HL/SVL, também com contribuições negativas, têm um efeito mais moderado, indicando que, à medida que PCA1 aumenta, essas variáveis diminuem em menor grau. Para PCA2, HL/SVL apresenta a maior contribuição negativa, indicando uma forte relação inversa com o componente principal. À medida que PCA2 aumenta, o valor de HL/SVL tende a diminuir significativamente. HAND3/UAL e FL/THL também têm contribuições negativas, mas em menor magnitude, refletindo uma relação inversa menos pronunciada com PCA2. Por outro lado, IN/HW

tem uma contribuição positiva moderada, indicando que, enquanto PCA2 aumenta, o valor de IN/HW tende a aumentar. Os resultados do teste MANOVA indicam uma diferença estatisticamente significativa entre as espécies *Allobates* sp. nov., e *A. albiventris*, em termos dos componentes principais, com um efeito muito forte (Pillai's Trace = 0,8444) e um teste F altamente significativo ($F = 78$, $p < 0,0001$), corroborando a descrição de um novo táxon. Essa divergência foi ilustrada no gráfico de PCA1 contra PCA2, da sumarização das 17 razões morfométricas, utilizando o erro padrão como centroide (Fig. 5).

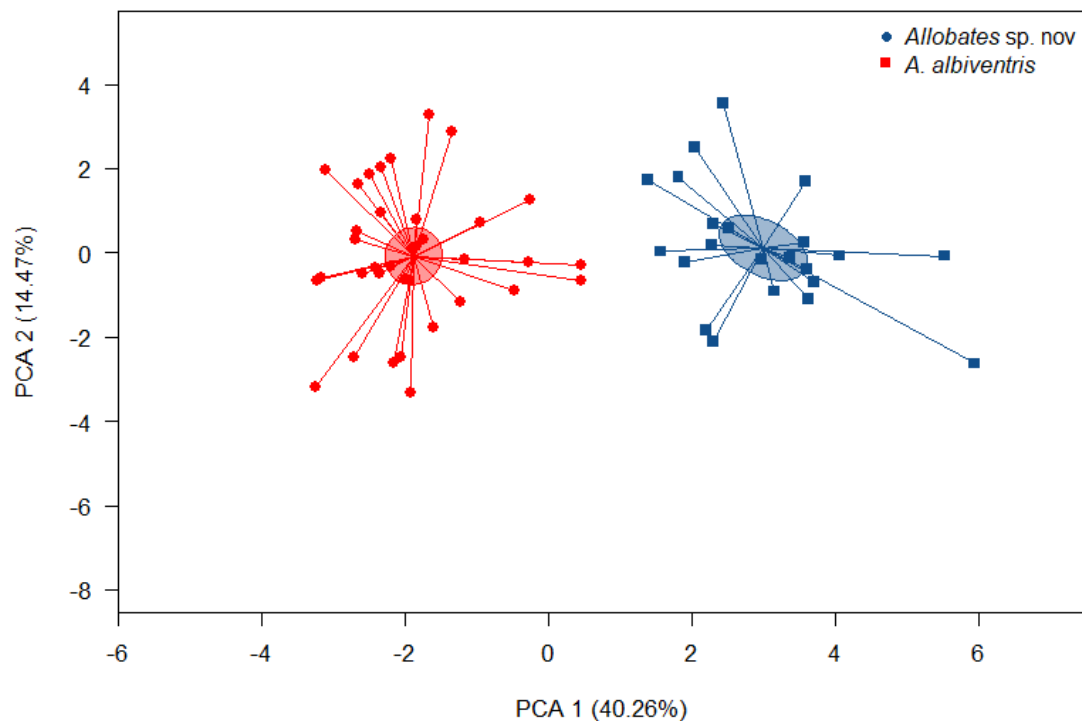


Figura 5. Relação entre PCA1 e PCA2 inferidas por Análises de Componentes Principais baseadas em 17 razões morfométricas de machos de *Allobates* sp. nov. e *A. albiventris*. Elipses significam erro padrão com intervalo de confiança = 95%. Os pontos com as linhas representam as distâncias de cada indivíduo em relação ao centroide.

Relações filogenéticas e distâncias genéticas

O clado *Allobates caeruleodactylus* foi recuperado como monofilético (Fig. 6), sendo composto pelas espécies nominais *A. caeruleodactylus*, *A. paleci*, *A. grillicantus*, *A. grillisimilis*, *A. tapajos*, *A. kamilae*, *A. albiventris* e linhagens candidatas aguardando descrição. Dentro do clado *A. caeruleodactylus*, o complexo de espécies *A. tapajos* foi recuperado como irmão do complexo *A. albiventris* (Fig. 6), sendo estes os dois maiores complexos de espécies do clado *A. caeruleodactylus*.

Sete grandes linhagens compõe o complexo *Allobates albiventris* (Fig. 6). A linhagem que representa *A. albiventris* sensu stricto foi recuperada como irmã da *A. aff. albiventris* linhagem (L1) de Abunã, e estas formam o clado irmão de *A. aff. albiventris* L2 das localidades Jirau Esquerdo, Ituxi, Boca do Acre, Pedras e Teotônio. Este grande clado se posiciona como irmão de outros três grandes clados composto por: *A. aff. albiventris* L3, *A. aff. albiventris* L4 e *A. aff. albiventris* L5, que ocorrem nas localidades Jainú West, Vai-Quem-Quer, FLONA de Tefé, Guajará, Malagueta, Ipixuna, Seringal Condor e Penedo. Espécimes de *Allobates* sp. nov. formam um grupo monofilético e ocupam a posição mais basal dentro do complexo *A. albiventris* (Fig. 6). Todos os suportes bootstrap de todas as linhagens dentro do complexo, com exceção da linhagem 4, que apresentou um suporte de 69, foram superiores a 90. Além disso, os suportes para as relações entre essas linhagens também foram maiores que 90 em todos os casos. (Fig. 6).

As amostras de espécimes de *Allobates* sp. nov. das localidades Eiru, Zacarias, São João e Araçazal são proximamente relacionadas e formam um clado monofilético (Fig. 6). Por outro lado, a única amostra analisada de Altamira apresenta maior diferenciação e se posiciona como irmã do clado contendo todas as demais amostras.

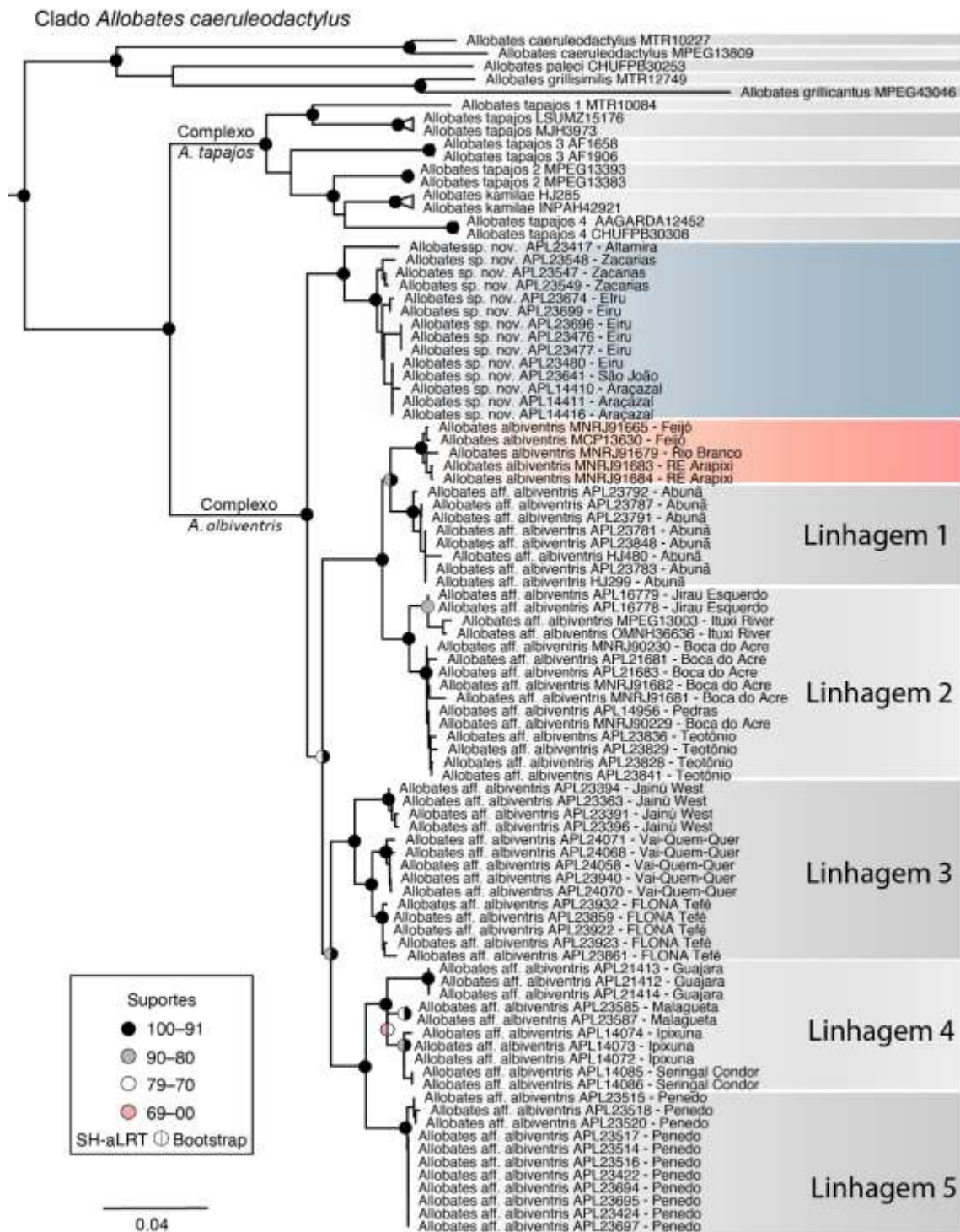


Figura 6. Relações filogenéticas do clado *Allobates caeruleodactylus* com base em 3.706 pares de bases de três genes mitocondriais (16S, COI e CYTB) e dois nucleares (RAG1 e TYR). Os suportes foram calculados por meio de 10.000 réplicas bootstrap ultrarrápidas e 10.000 réplicas do teste de razão de verossimilhança de Shimodaira-Hasegawa.

Taxonomia

Allobates **sp. nov.**

Allobates gasconi Réjaud *et al.* 2020, Vacher *et al.* 2020.

Allobates gasconi SL4 Ferrão *et al.* 2022

Allobates gasconi SL3 Ferreira *et al.* 2023

Allobates aff. *albiventris* SL1 Souza *et al.* 2023.

Holótipo

Macho adulto (número de campo APL 23551), coletado por Albertina P. Lima, Miquéias Ferrão e Anthony S. Ferreira, em 06 de fevereiro de 2021, na margem leste do rio Gregório, próximo a Comunidade Zacarias (6.8761111 S, 70.64250 W), município de Eirunepé, estado do Amazonas, Brasil, (Fig. 1).

Parátipos

Quarenta e três indivíduos foram coletados, junto ao holótipo, entre os dias 25 de janeiro e 12 de fevereiro de 2021. Comunidade de Eiru (6.938055 S, 70.044166 W): uma fêmea (número de campo APL 23480), sete machos (números de campo APL 23476 – 79, 23674 – 76); Comunidade Zacarias (6.8761111 S, 70.64250 W): uma fêmea (número de campo APL 23549), cinco machos (números de campo APL 23547 – 48, 23550, 23552, 23560); Comunidade São João (6.783888 S, 70.0055 W): seis machos (números de campo APL 23641 – 46); Comunidade Vila União (6.829562 S, 70.549401 W): três fêmeas (números de campo APL 23620, 23625, 23628), oito machos (números de campo APL 23619, 23621 – 24, 23626 – 27, 23629); Comunidade Altamira (6.583381 S, 68.900016 W): duas fêmeas (números de campo APL 23416, 23428), oito machos (números de campo APL 23417, 23423, 23426 – 27, 23434 – 35, 23437 – 38).

Etimologia

O nome de *Allobates* sp. nov. não pode ser revelado nessa dissertação devido às regras de descrição de espécies. Que invalidaria o nome na publicação futura.

Alocação genérica

Allobates sp. nov. é alocada no gênero *Allobates* por dispor dos seguintes caracteres morfológicos (seguindo Grant *et al.* 2017): comprimento do dedo IV não

alcançando o tubérculo subarticular distal do dedo III; o dedo III inchado em machos adultos; presença de franjas laterais nos dedos das mãos e pés; presença de marcas paracloacais; presença de faixa ventre lateral; presença de faixa lateral oblíqua difusa; presença de escamas digitais dorsais; ausência de processo lingual. A presente alocação genérica é adicionalmente suportada pelo posicionamento filogenético da espécie com outros *Allobates* (Melo-Sampaio *et al.* 2018, Réjaud *et al.* 2020, Ferrão *et al.* 2022, Ferreira *et al.* 2023, Souza *et al.* 2023, presente estudo).

Caracterização de *Allobates* sp. nov

Utilizamos 52 características pertinentes a diagnose, seguindo Grant *et al.* (2006) e Jaramillo *et al.* (2021). *Allobates* sp. nov. possui o seguinte arranjo de características particulares: **(01)** textura dorsal tubercular e granular em machos e fêmeas; **(02)** comprimento médio SVL para machos $16.4 \text{ mm} \pm 0.57$, e para fêmeas 17.3 ± 0.4 ; **(03)** forma do focinho levemente arredondado, em posição dorsal e ventral, e ovalado em vista lateral; **(04)** cantus rostrális é côncavo, e arredondado em visão lateral e dorsal; **(05)** linha central no dorso é ausente; **(06)** a superfície dorsal possui cor castanho com manchas marrons e melanóforos enegrecidos distribuídos por todo o dorso; **(07)** faixa dorsolateral presente, difusa com bordas internas irregulares, melhor definida até a inserção dos braços, após essa região é estreita e pouco definida, de cor creme com melanóforos; **(08)** faixa lateral marrom escura presente e contínua, com falhas na região inguinal; **(09)** faixa ventre lateral presente em vida, irregular em toda sua extensão com coloração creme e com regiões iridescente e porosas, remetendo superfície de esponjas, em preservativo não visível na maioria dos espécimes; **(10)** faixa oblíqua presente e difusa, constituindo pequenas falhas de cor creme localizada na região central da faixa lateral marrom próximo a virilha; **(11)** cor dorsal dos braços creme amarelada, com manchas marrons onde há maior concentração de melanóforos; **(12)** cor dorsal na coxa e perna, creme amarelada com manchas marrons difusas e melanóforos uniformemente distribuídos; **(13)** marca paracloacal presente, com formato de apóstrofo, que se estende obliquamente até a região posterior lateral da coxa; **(14)** íris com fundo marrom escuro com o anel reticulado de cor metálica e prata na região superior e inferior, enquanto nas laterais o anel é contínuo e negro; **(15)** escama dorsal digital presente em todos os dedos; **(16)** excrecência nupcial, no polegar da mão, ausente; **(17)** membranas basais nos dedos das mãos ausente; **(18)** ausência de faixas nas coxas, pernas e pés, apenas manchas; **(19)** almofada supracarpal,

na parte superior da mão, ausente; **(20)** ausência de tubérculo supernumérico nas mãos; **(21)** cume metacarpo da mão presente; **(22)** nos machos, o dedo III é inchado da base até a ponta da falange, sendo mais largo na base até o início do tubérculo proximal; **(23)** dedo II inchado da base ao tubérculo subarticular medial; **(24)** quilhas laterais presentes em todos os dedos das mãos; **(25)** tubérculo tenar presente, conspícuo e ovalado; **(26)** tubérculo palmar presente, conspícuo e ovalado; **(27)** dedos III e IV, das mãos, com discos moderadamente expandidos; **(28)** o tímpano é bem visível e conspícuo; **(29)** narinas visíveis dorsalmente, lateralmente e ventralmente; **(30)** dedo IV não alcança tubérculo subarticular distal do dedo III, das mãos, quando são aproximados; **(31)** dedo II mais curto em relação ao dedo I, das mãos quando aproximados; **(32)** ausência de faixa negra acima do cotovelo; **(33)** dedo III ultrapassa tubérculo central do dedo IV, dos pés quando aproximados; **(34)** presença do tubérculo basal do dedo IV dos pés; **(35)** quilha tarsal presente com formato tubercular; **(36)** franja tarsal presente; **(37)** quilhas laterais presente nos dedos I-V dos pés, pré e pós-axial, em todas suas extensões; **(38)** membrana basal entre os dedos dos pés I e II ausente, II e III presente rudimentar, III e IV presente, IV e V ausente; **(39)** denticulos são presentes e vistos somente em ampliação; **(40)** ausência de processo lingual; **(41)** a língua possui largura semelhante, da base até sua extremidade final, possuindo maior comprimento que largura, sendo fixa na base da boca; **(42)** o testículo não pigmentado; **(43)** ovócitos maduros de cor marrom e imaturos negros; **(44)** linha no lábio inferior ausente; **(45)** o intestino grosso não pigmentado, nos machos e fêmeas; **(46)** em preservativo garganta dos machos, de cor creme com poucos melanóforos, ficando concentrados na borda da mandíbula, e papo cor creme, levemente amarelado; em vida branco translucido; **(47)** saco vocal visível com formato redondo; **(48)** em preservativo garganta da fêmea possui cor creme e ventre esbranquiçado, sem melanóforos; **(49)** barriga dos machos mais comprida que larga, com coloração amarelada, com uma linha translúcida na região central e áreas com falhas de cor creme, e sem melanóforos; **(50)** barriga das fêmeas mais larga que comprida, com coloração de cor creme com áreas amareladas e áreas translúcidas e livre de melanóforos; **(51)** tubérculos subarticulares presente, com formato ovalado nos dedos I, II e IV, tubérculo subarticular distal, no dedo III, tem formato redondo; **(52)** possui canto de anúncio com duas notas, emitidos em intervalos irregulares, com taxa de emissão de 42.7 cantos por minuto, duração do canto (DC) 50 ± 3 ms (43 – 56 ms), duração da nota um (DN1): 13 ± 3 ms (8 – 23 ms), duração da nota dois (DN2): 19 ± 3 ms (14 – 26), frequência dominante

da nota um (FDN1): $5,215 \pm 138$ Hz (4,907 – 5,440 Hz), frequência dominante da nota dois (FDN2): $5,541 \pm 160$ Hz (5,290 – 5,825).

Comparações interespecíficas

Características nos parênteses, representam os padrões das espécies comparadas. *Allobates* **sp. nov.** distingue-se facilmente de *A. flaviventris*, *A. fuscus*, *A. grillicantus*, *A. kamilae*, *A. melanolaemus*, *A. nidicola*, *A. ornatus*, *A. paleci*, *A. paleovarzensis*, *A. tapajos*, *A. tinae*, *A. trilineatus*, *A. vanzolinius* e *A. velocicantus*, por ter papo branco e translúcido em vida (saco vocal preto, violáceo, cinza ou amarelo); *Allobates* **sp. nov.** difere no SVL, por ter o máximo de 17,3 mm, de *A. nidicola*, *A. nidicola*, , *A. nunciatus*, *A. paleovarzensis*, *A. vanzolinius* (SVL mínimo de *A. nidicola* > 18.5 mm, *A. nunciatus* > 19.2 mm, *A. paleovarzensis* > 18.2 mm e *A. vanzolinius* > 21.5 mm); *Allobates* **sp. nov.** difere de *A. pacaas*, por ter apenas um tubérculo subarticular distal no dedo IV e papo branco (dois tubérculos subarticulares distais e papo acizentado); *Allobates* **sp. nov.** difere de *A. caeruleodactylus* por ter dedos marrons em vida e faixa dorsolateral (dedos azul-celeste, faixa dorsolateral ausente); *Allobates* **sp. nov.** difere de *A. kamilae* por ter faixa dorsolateral pálida e faixa ventre lateral em espécimes vivos (ambas as faixas ausentes), por ter cantos constituídos por duas notas (uma nota em *A. kamilae*).

A análise revelou que a cabeça de *Allobates* sp. nov. é proporcionalmente mais larga que a de *A. albiventris*. Em média, a largura da cabeça é 14% maior em relação ao comprimento (HW/HL, $t = 18,7$, $df = 68$, $p = 0,0022$), enquanto em *A. albiventris* essa diferença é menor. Além disso, o comprimento da cabeça em relação ao comprimento total do corpo (SVL) é 13% menor em *Allobates* sp. nov. (HW/SVL, $t = 17,3$, $df = 80$, $p = 0,0002$), indicando que essa espécie apresenta uma cabeça mais compacta e proporcionalmente menor em relação ao corpo, comparada a *A. albiventris*. Os membros anteriores também se destacam, sendo significativamente menores em *Allobates* sp. nov. quando comparados a *A. albiventris*. O braço é 5% menor em relação ao comprimento do corpo (UAL/SVL, $t = 4,58$, $df = 80$, $p = 0,001$), e o antebraço é 8% menor (FAL/SVL, $t = 4,3$, $df = 80$, $p = 0,0003$). Outra diferença morfológica importante é a proporção entre o tubérculo tenar e o tubérculo palmar, onde *Allobates* sp. nov. apresenta um tubérculo tenar 25% maior, em comparação com *A. albiventris* (WTT/DPT, $t = -7,8$, $df = 80$, $p = 0,0016$).

Adicionalmente, o focinho de *Allobates* sp. nov. é 14% menor em relação à largura da cabeça, comparado a *A. albiventris* (SL/HL, $t = 6,4$, $df = 80$, $p = 0,0083$), corroborando uma distinção no formato da cabeça. Além das diferenças quantitativas, há também distinções qualitativas notáveis. *Allobates* sp. nov. apresenta dorso tubercular, marrom e com tubérculos uniformemente distribuídos, enquanto *A. albiventris* tem um dorso liso, com grânulos na região posterior média e um padrão de desenhos em formato de ampulheta ou diamante. O formato do focinho e o cantus rostralis também diferem: *Allobates* sp. nov. possui um focinho arredondado em vista dorsal e ventral, enquanto o de *A. albiventris* é semi-truncado e semi-acuminado; o cantus rostralis da nova espécie é côncavo e arredondado em vista dorsal, enquanto o de *A. albiventris* é levemente reto. Outro aspecto distintivo é a presença e o desenvolvimento da franja metacarpal em *Allobates* sp. nov., ausente em *A. albiventris*.

Essas análises, tanto quantitativas quanto qualitativas, apontam para uma distinção clara entre as duas espécies, suportando que *Allobates* sp. nov. representa uma nova espécie morfologicamente distinta de *A. albiventris*.

Descrição do holótipo

Macho adulto (APL23551) com dorso tubercular, com melanóforos amplamente distribuídos em seu dorso e manchas enegrecidas (Fig. 7a). O holótipo possui cabeça levemente mais comprida que larga (HW/HL = 90%; HL=33% do SVL; HW=29% do SVL). Forma do focinho arredondado em vista dorsal e ventral, e ovalado em posição lateral, sendo 39% de HL e mais curto que o diâmetro dos olhos (SL = 2.13; EL = 2.38); cantos rostráis côncavo; tímpano e membrana timpânica conspícuos e visíveis, possuindo 33% do diâmetro dos olhos (TYM/EL); olhos representando 44% de largura da cabeça; narinas bem visíveis lateralmente e pouco visível dorso ventralmente, sendo levemente menor que a largura da cabeça e distância interorbital (IND = 46% de HW e IO); língua mais comprida que larga, sendo a largura igual a sua extensão e fixada na região final e anterior do assoalho bucal; processo mediano lingual é ausente; braços levemente maiores que antebraço (UAL = 3,84 mm; FAL = 3,32 mm), e levemente menor que a mão, 6% (H3/UAL).

Os dedos das mãos possuem as seguintes ordens de comprimentos, $IV < II = I < III$ (HAND II = 10% maior que HAND IV e HAND I 25% menor que HAND III); dedo IV

não alcança tubérculo subarticular distal do dedo III, quando aproximados; os discos dos dedos I e II são arredondados, e fracamente expandidos, enquanto dedos III e IV são moderadamente expandidos e com formato ovalado; tubérculo tenar conspicuo com formato ovalado; tubérculo palmar conspicuo e ovalado; tubérculo subarticular presente em todos os dedos, sendo nos dedos I e II ovalado e III e IV redondo, e todos não ultrapassando a largura dos dedos; tubérculo subarticular distal no dedo III arredondado; tubérculos supranuméricos são ausentes; dedo III inchado na base; dedo II moderadamente inchado na base; larguras das falanges distais dos dedos II, III e IV são 10%, 14% e 32%, menores que a largura de seus, respectivos discos; franjas laterais presente em todos os dedos, com maior visibilidade nos dedos III e IV; coxa e tíbia são de tamanhos próximos, pé levemente menor que a tíbia e coxa ($FL = 90\%$ de TL e 91% de THL); os dedos dos pés tem os comprimentos relativos $I < II < V < III < IV$; membrana basal entre os dedos dos pés, presente mas rudimentar entre dedo II e III e alongada entre III e IV; o formato dos discos dos pés é ovalado nos dedos I, II e V, e ovalado no III e IV; franjas laterais presente, em todos os dedos dos pés; quilha tarsal presente com formato tubercular; tubérculos metatarsais presente, com o interno e medial ovalado, e distal ovalado; franja metatarsal presente e alongada, tendo origem no dedo V, até a região do calo distal; quando justapostos a ponta do dedo III ultrapassa o tubérculo subarticular medial do dedo IV do pé. As medições do holótipo são apresentadas na Tabela 1.

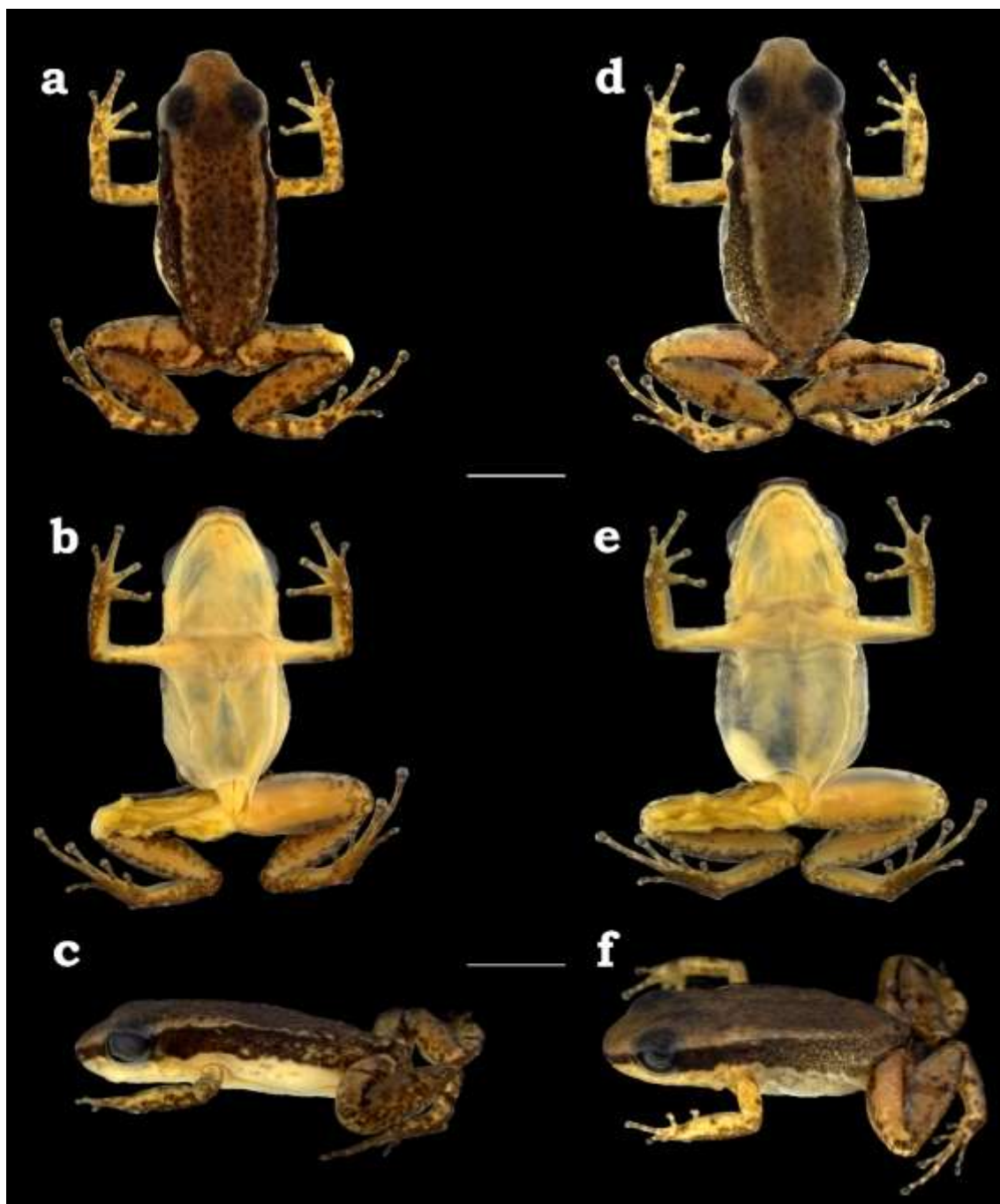


Figura 7. Vistas dorsais, ventrais e laterais do macho holótipo AP23551 (A–C) e fêmea parátipo APL23449 (D–F) de *Allobates* sp. nov. Barras de escala: 3 mm.

Coloração de adultos em preservativo

Os espécimes em preservativo, possui coloração dorsal castanho, com tubérculos de cor marrom escuros e distribuídos em todo o dorso. Há falhas de cor creme, com melanóforos escurecidos, que se acumulam na região das pálpebras, formando manchas arredondadas que cobrem as duas pálpebras, outra região de acúmulo de melanóforos é na região após a cabeça, formando um círculo irregular. Na região do focinho possui coloração creme

desde poucos tubérculos a nenhum, mas possui melanóforos bem distribuídos. A região ao redor dos olhos é marrom escuro, enquanto lateralmente existe uma faixa marrom com tubérculos e melanóforos enegrecidos que se inicia na região das narinas, sendo estreita, e segue continuamente até a região do uróstilo, apresentando falhas, de cor creme, a partir da região central ou inserção dos braço, no qual a borda inferior é conspícua e bem definida em toda a extensão, enquanto a superior fica inconspícua a partir da região final com o aumento de falhas de cor creme (Fig. 7c e f). A faixa dorso lateral possui cor creme, na região do focinho e poucos melanóforos, após os olhos, a cor permanece creme, porém com aumento de melanóforos, e falhas, principalmente na borda superior, que desde a região central torna-se inconspícua, e existem poucos tubérculos nessa faixa. Nenhum membro inferior possui faixa completa, somente manchas por acúmulo de melanóforos. A coxa possui cor castanho claro, mas beirando o laranja com melanóforos bem distribuídos, com falhas de cor creme. Na região dorsal da coxa, existe uma área, predominantemente castanho com melanóforos escuros que se estendem até a região da marca paracloacal, na região dorsolateral da coxa, existem áreas mais escuras com manchas marrons, e com tubérculos bem distribuídos. A perna por sua vez possui cor castanho, com melanóforos bem distribuídos em toda sua extensão, há pequenas concentrações de manchas escuras na região dorsal, mas as manchas ficam mais conspícua nas regiões dorsolaterais. Concentrações de melanóforos nos dedos IV e V são mais evidentes, pois no tarso existe uma grande área de cor creme livre de melanóforos (Fig. 8c e d). Região ventre-lateral possui manchas de cor creme com melanóforos, e regiões esbranquiçadas, e áreas iridescentes. Existem pequenos círculos ovalados, dando a impressão de uma superfície porosa, remetendo a superfícies das esponjas. A garganta dos machos, cor creme com poucos melanóforos, concentrados na borda da mandíbula e barriga creme, livre de melanóforos, enquanto das fêmeas, cor creme com melanóforos ao redor dos lábios e ventre esbranquiçado, sem melanóforos.

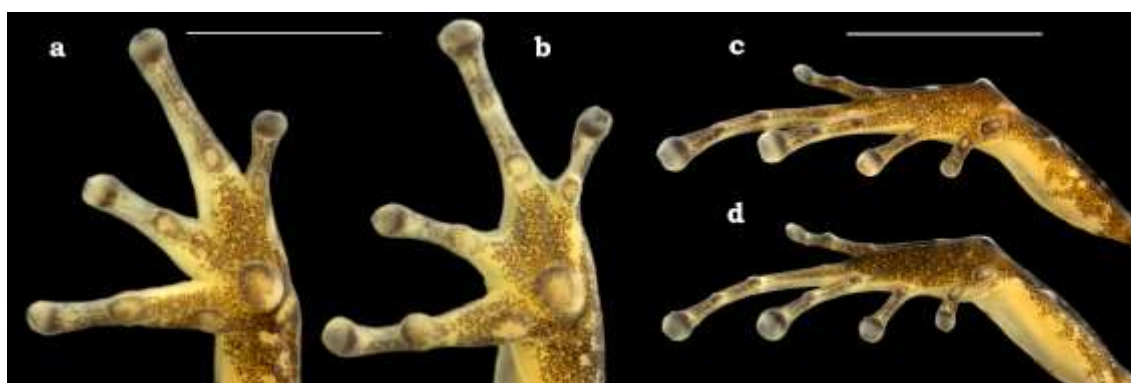


Figura 8. Vistas ventrais da mão e pé do macho holótipo APL23551 (a, c) e fêmea parátipo APL23549 (b, d) de *Allobates* sp. nov. Note a diferença na largura dos dedos II e III da mão entre sexo. Barras de escala: 2 mm.

Coloração de adultos em vida

Apenas dois indivíduos da série tipo possuem a região ventral iridescentes, todos o resto dos espécimes possuem a barriga branca (Fig. 9 B). O dorso uniformemente tuberculado com melanóforos enegrecidos, pálpebras manchadas, braços e pernas com melanóforos negros que formam manchas, faixa dorsolateral com borda inferior bem definida e de cor creme, faixa lateral marrom escura, mas com falhas de cor creme somente na faixa oblíqua, faixa ventre lateral com áreas iridescente e irregular com tons dourados e creme, esse padrão foi visualizado na maioria dos indivíduos (Fig. 9 D-F). A cor dorsal é a característica que mais possui variação, com um dorso enegrecido e altamente tuberculado (Fig. 9 I-J), presente em 8 espécimes; dorso claro com poucas manchas marrons (Fig. 9 G-H), visto em dois exemplares. Oito espécimes possuem área da região ventre lateral com manchas marrons (Fig. 9 K-L). Quinze indivíduos possuem áreas das pálpebras iridescente (Fig. 9 M)

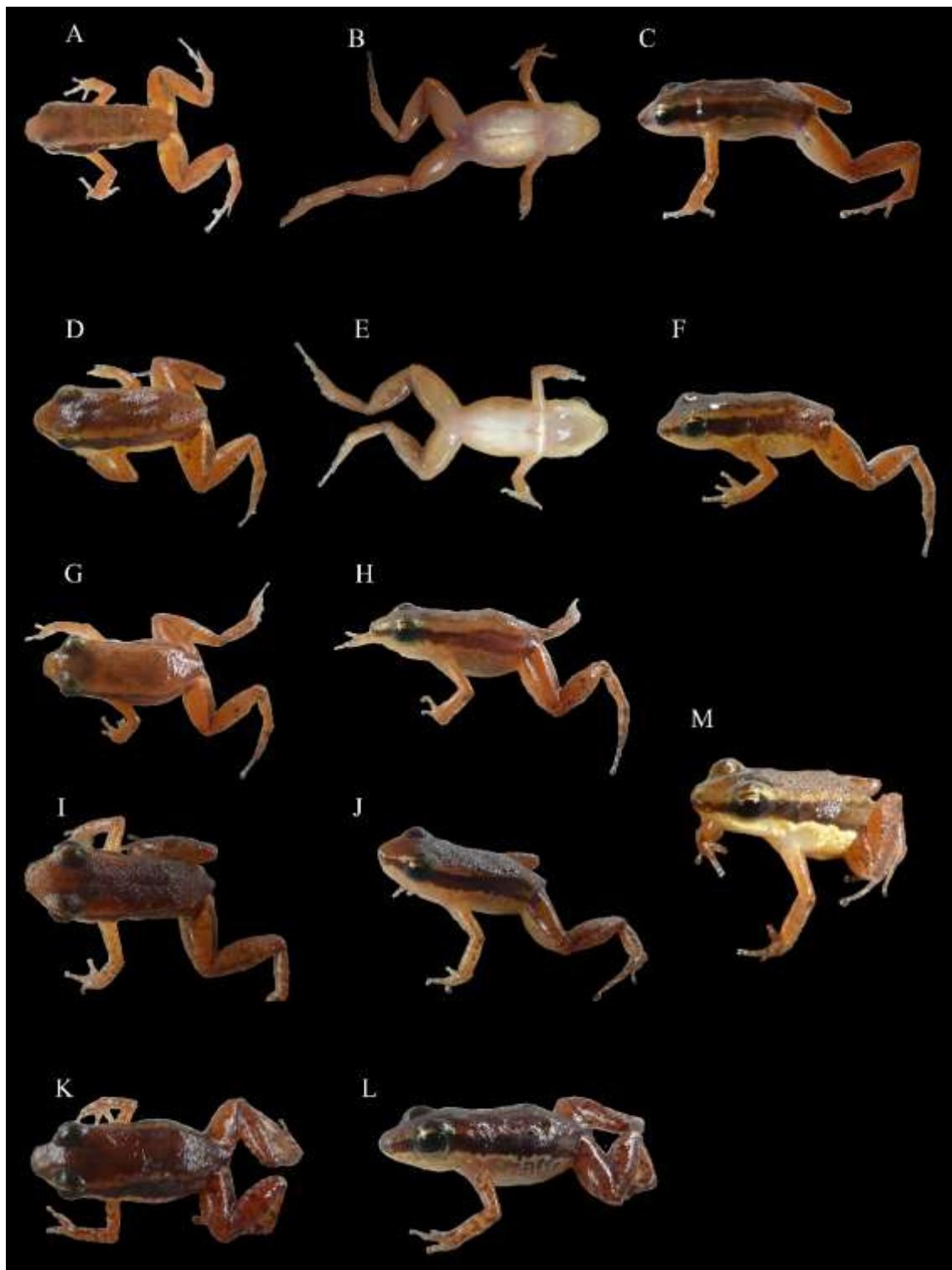


Figura 9: Coloração de *Allobates* sp. nov. em vida: A-C: APL23414; D-F: APL23642; G-H: APL23619; I-J: APL23629; K-L: 23620; M: APL23435. Fotos: Albertina Lima.

Variação da coloração da série tipo

Allobates sp. nov. possui 72% (n = 32) com padrão de cor idêntico ao holótipo (Fig. 7). Com 6% (n = 3), possuindo dorso claro com melanóforos uniformemente distribuídos, grânulos formando poucas manchas, com faixa dorsolateral inconspícua de cor creme. Os braços possuem melanóforos que não formam manchas e estão espalhados, diferente do holótipo (Fig. 7 a). A mancha central da cabeça é levemente presente (Fig. 10 A). A faixa marrom lateral possui falhas de cor creme a partir da inserção dos braços, com borda superior bem definida e enegrecida, a faixa ventre lateral é inconspícua com melanóforos presente e levemente concentrados (Fig. 10 C). A população tem 13% (n = 6) com dorso altamente enegrecido devido ao acúmulo de melanóforos, com braços e pernas com o mesmo padrão, com a formação de manchas (Fig. 10 D-F). Faixa dorsolateral conspícua até a região após a inserção dos braços, com coloração creme, faixa ventre lateral inconspícua com alta presença de melanóforos que formam manchas (Fig. 10 F). O ventre é levemente mais amarelado, com presença de melanóforos nos lábios (Fig. 10 E). Dois indivíduos apresentam dorso marrom, com faixa dorsolateral bem definida, com cor creme, que se estende até a região inguinal, e com manchas nos braços, e na perna que forma uma leve faixa irregular, e ventre com poucos melanóforos (Fig. 10 G-I). Um exemplar possui um padrão corporal de coloração clara, com tubérculos que formam manchas circulares, no dorso e nas pernas, com uma faixa dorsolateral conspícua de coloração creme com melanóforos, bem como, a faixa lateral marrom que é bem definida em ambas as bordas. Sua lateral possui pouquíssimos melanóforos, com a faixa ventre lateral inconspícua, seu ventre é amarelado e livre de melanóforos (Fig. 10 J-L).

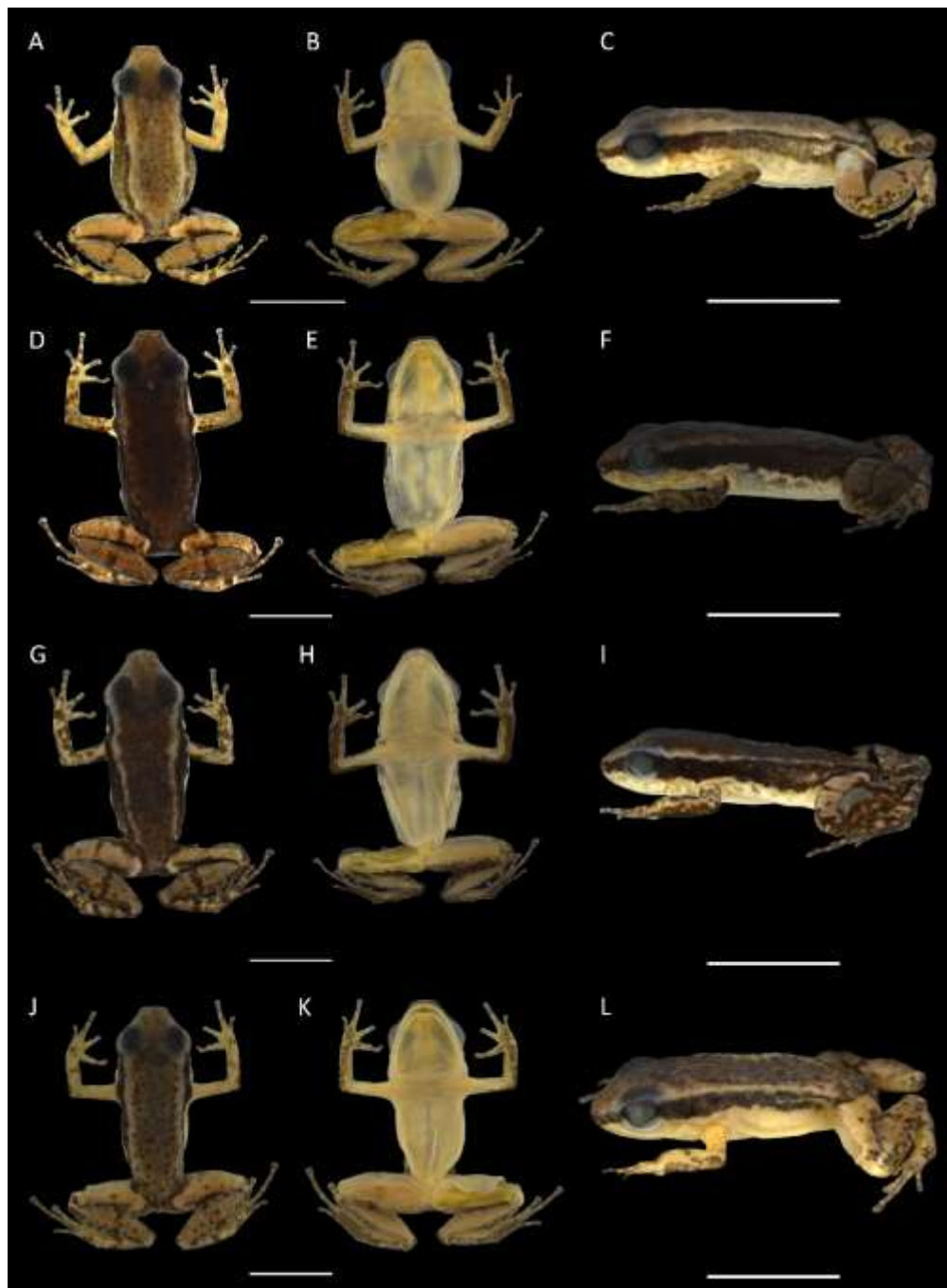


Figura 10: Variação de cor da série tipo em preservativo: A-C: APL619; D-F: APL23628; G-I: APL23645; J-L: APL23674. Barras de medidas: 2 mm (A-B; D-E; G-H; J-K); 5 mm (C; F; I; L)

Variação morfológica dos parátipos

Foram observadas diferenças significativas entre machos e fêmeas de *Allobates* sp. nov., tanto nas características morfológicas quanto nas texturais e cores. A textura dorsal variou entre granular e tubercular em ambos os sexos. Nos machos ($n = 16$),

45,71% apresentaram dorso granular, enquanto nas fêmeas ($n = 2$), esse valor foi de 22,22%. Em relação ao formato do focinho, nos machos houve uma variação de 17,14%, sendo truncado em vista dorsal e ventral, e arredondado em vista lateral. Uma única fêmea exibiu esse mesmo padrão, enquanto as demais apresentaram focinho arredondado em vistas dorsal e ventral, e ovalado em vista latera. A coloração dorsal também variou entre os sexos: 34,28% dos machos ($n = 12$) exibiram coloração marrom, enquanto nas fêmeas esse valor foi de 22,22% ($n = 2$). A maioria da população, no entanto, apresentou coloração castanha. Uma faixa dorso lateral foi observada em todos os indivíduos, mas as faixas não se estendiam pelos braços, antebraços, coxas, pernas e pés.

Diferenças significativas entre os sexos foram encontradas em 9 das 26 razões morfométricas analisadas, representando 34% das variáveis, enquanto nas demais houve sobreposição dos dados. Entre as diferenças morfométricas significativas, o comprimento do corpo (SVL) das fêmeas foi 5,62% maior que o dos machos (T-teste: $t = 4,5369$, $df = 42$, $p = 0,004$). As fêmeas também apresentaram cabeças 3,82% mais largas que os machos, embora em ambas os sexos a cabeça é mais larga que comprida (T-teste: $t = 2,0487$, $df = 42$, $p = 0,046$). Além disso, na razão entre o comprimento da cabeça (HL) e o comprimento do corpo (SVL), os machos mostraram uma proporção de 33%, enquanto nas fêmeas foi de 31%, indicando que os machos têm uma cabeça proporcionalmente maior (T-teste: $t = -2,1318$, $df = 42$, $p = 0,03$). O mesmo padrão foi observado para o comprimento do dedo III (H3), que representou 22,18% do comprimento do corpo nos machos e 21,29% nas fêmeas, mostrando que os machos possuem um dedo III proporcionalmente maior (T-teste: $t = 2,061$, $df = 42$, $p = 0,045$).

A distância entre a narina e o olho (END) em relação ao comprimento do olho também apresentou uma diferença significativa entre os sexos, sendo 4,95% maior nas fêmeas (T-teste: $t = 3,7172$, $df = 42$, $p = 0,0005$). Esses dados indicam um aparente dimorfismo sexual na população de *Allobates* sp. nov., com as fêmeas apresentando maior tamanho corporal e de cabeça, enquanto os machos possuem proporções relativamente maiores em alguns traços específicos, como o comprimento do dedo III e a relação entre o comprimento da cabeça e o corpo.

Tabela 1 - Medidas morfométricas de *Allobates* sp. nov. e *A. albiventris*. Os valores representam média $\pm$ desvio padrão (intervalo). As siglas dos caracteres são descritas no texto; n = número de indivíduo

<i>Allobates</i> sp. nov.				<i>Allobates albiventris</i>	
Medidas	Holótipo	Machos (n = 35)	Fêmeas (n = 9)	Machos (n = 19)	Fêmeas (n = 10)
SVL	16.7	16.4 ± 0.4 (15.3 - 17.4)	17.3 ± 0.4 (16.7 - 17.8)	15.3 ± 0.5 (14.3 - 16.4)	16.5 ± 0.5 (15.7-17.5)
HL	5.4	5.4 ± 0.2 (4.8 - 5.9)	5.6 ± 0.3 (5.1 - 6.0)	4.9 ± 0.2 (4.6 - 5.4)	5.3 ± 0.2 (5.1-5.9)
HW	4.9	4.8 ± 0.3 (4.1 - 5.4)	5.0 ± 0.1 (4.8 - 5.3)	4.6 ± 0.2 (4.8 - 5.5)	5.5 ± 0.2 (5.1-5.9)
SL	2.1	1.6 ± 0.2 (1.3 - 2.0)	1.7 ± 0.1 (1.5 - 1.9)	2.0 ± 0.1 (1.8 - 2.3)	2.1 ± 0.2 (1.7-2.4)
END	1.4	1.3 ± 0.1 (1.1 - 1.4)	1.4 ± 0.1 (1.2 - 1.5)	1.5 ± 0.1 (1.9 - 2.3)	1.5 ± 0.1 (1.4-1.8)
IN	2.2	2.2 ± 0.1 (1.9 - 2.5)	2.4 ± 0.1 (2.1 - 2.6)	2.1 ± 0.1 (1.8 - 2.4)	2.2 ± 0.1 (2.0-2.5)
IO	4.9	4.7 ± 0.2 (4.2 - 5.2)	4.8 ± 0.3 (4.2 - 5.2)	4.5 ± 0.2 (4.1 - 5.1)	4.7 ± 0.2 (4.4-5.0)
EL	2.4	2.1 ± 0.2 (1.6 - 2.5)	2.1 ± 0.3 (1.7 - 2.5)	2.0 ± 0.1 (1.8 - 2.2)	2.0 ± 0.1 (1.9-2.3)
TYM	0.8	0.8 ± 0.1 (0.7 - 1.1)	0.9 ± 0.1 (0.7 - 1.0)	0.7 ± 0.1 (0.6 - 0.9)	0.8 ± 0.1 (0.6-0.9)
FAL	3.3	3.3 ± 0.2 (2.9 - 3.7)	3.4 ± 0.2 (3.0 - 3.8)	3.4 ± 0.2 (3.1 - 3.8)	3.6 ± 0.2 (2.8-3.7)
UAL	3.8	3.9 ± 0.2 (3.4 - 4.3)	3.8 ± 0.2 (3.5 - 4.1)	3.8 ± 0.2 (3.5 - 4.2)	3.8 ± 0.3 (3.1-4.3)
HAND I	2.7	2.8 ± 0.1 (2.5 - 3.1)	2.8 ± 0.1 (2.7 - 2.9)	2.7 ± 0.1 (2.5 - 2.9)	2.8 ± 0.1 (2.6-3.0)
HAND II	2.7	2.6 ± 0.1 (2.3 - 2.8)	2.6 ± 0.1 (2.3 - 2.8)	2.6 ± 0.1 (2.3 - 2.8)	2.6 ± 0.1 (2.4-2.9)
HAND III	3.5	3.6 ± 0.1 (3.4 - 3.9)	3.6 ± 0.1 (3.3 - 3.8)	3.6 ± 0.2 (3.3 - 4.0)	3.6 ± 0.2 (3.3-4.0)
HAND IV	2.4	2.4 ± 0.1 (2.2 - 2.6)	2.4 ± 0.1 (2.2 - 2.4)	2.3 ± 0.2 (1.9 - 2.6)	2.4 ± 0.1 (2.1-2.6)
TL	6.9	7.5 ± 0.3 (6.9 - 8.0)	7.8 ± 0.3 (7.3 - 8.2)	7.4 ± 0.4 (6.5 - 8.1)	7.5 ± 0.3 (7.0-8.0)
FL	6.2	6.6 ± 0.3 (5.7 - 7.2)	6.9 ± 0.4 (6.4 - 7.5)	6.6 ± 0.4 (6.0 - 7.6)	6.7 ± 0.3 (6.2-7.2)
THL	6.8	6.9 ± 0.2 (6.5 - 7.3)	7.2 ± 0.3 (6.6 - 7.5)	6.9 ± 0.4 (6.0 - 8.1)	7.3 ± 0.3 (6.9-8.1)
DPT	0.5	0.5 ± 0.0 (0.4 - 0.6)	0.5 ± 0.1 (0.4 - 0.6)	0.5 ± 0.1 (0.4 - 0.6)	0.5 ± 0.1 (0.4-0.6)
WTT	0.5	0.5 ± 0.1 (0.3 - 0.6)	0.5 ± 0.1 (0.4 - 0.6)	0.4 ± 0.1 (0.3 - 0.5)	0.4 ± 0.1 (0.3-0.5)
WFD I	0.4	0.4 ± 0.1 (0.3 - 0.5)	0.4 ± 0.1 (0.2 - 0.5)	0.4 ± 0.0 (0.3 - 0.5)	0.4 ± 0.1 (0.3-0.5)
WFD II	0.4	0.4 ± 0.0 (0.4 - 0.5)	0.4 ± 0.0 (0.4 - 0.5)	0.4 ± 0.1 (0.4 - 0.5)	0.4 ± 0.0 (0.3-0.5)
WFD III	0.4	0.5 ± 0.0 (0.4 - 0.5)	0.5 ± 0.1 (0.4 - 0.6)	0.5 ± 0.0 (0.4 - 0.6)	0.5 ± 0.1 (0.4-0.6)
WFD IV	0.4	0.4 ± 0.0 (0.4 - 0.5)	0.4 ± 0.0 (0.4 - 0.4)	0.4 ± 0.1 (0.3 - 0.5)	0.5 ± 0.1 (0.3-0.6)
WTD I	0.4	0.3 ± 0.0 (0.3 - 0.4)	0.3 ± 0.1 (0.2 - 0.4)	0.3 ± 0.0 (0.3 - 0.4)	0.3 ± 0.0 (0.3-0.4)
WTD II	0.5	0.5 ± 0.1 (0.4 - 0.6)	0.5 ± 0.0 (0.4 - 0.5)	0.5 ± 0.1 (0.4 - 0.6)	0.5 ± 0.1 (0.4-0.6)
WTD III	0.6	0.6 ± 0.1 (0.5 - 0.7)	0.5 ± 0.1 (0.5 - 0.6)	0.6 ± 0.1 (0.5 - 0.7)	0.6 ± 0.1 (0.5-0.8)
WTD IV	0.6	0.6 ± 0.1 (0.4 - 0.7)	0.6 ± 0.0 (0.6 - 0.6)	0.6 ± 0.1 (0.5 - 0.8)	0.6 ± 0.1 (0.5-0.8)
LI2I	0.5	0.5 ± 0.1 (0.3 - 0.6)	0.4 ± 0.1 (0.4 - 0.5)	não medido	não medido

LI2S	0.3	$0.3 \pm 0.1 (0.2 - 0.5)$	$0.3 \pm 0.1 (0.2 - 0.4)$	não medido	não medido
LI3I	0.5	$0.5 \pm 0.1 (0.4 - 0.6)$	$0.5 \pm 0.1 (0.4 - 0.6)$	não medido	não medido
LI3S	0.4	$0.4 \pm 0.0 (0.3 - 0.5)$	$0.4 \pm 0.0 (0.3 - 0.4)$	não medido	não medido
WPF I	0.4	$0.3 \pm 0.1 (0.2 - 0.4)$	$0.3 \pm 0.0 (0.2 - 0.3)$	$0.3 \pm 0.0 (0.2 - 0.4)$	$0.3 \pm 0.0 (0.3-0.3)$
WPF II	0.4	$0.3 \pm 0.0 (0.2 - 0.4)$	$0.3 \pm 0.0 (0.3 - 0.3)$	$0.3 \pm 0.0 (0.3 - 0.4)$	$0.3 \pm 0.0 (0.2-0.4)$
WPF III	0.4	$0.3 \pm 0.0 (0.3 - 0.4)$	$0.3 \pm 0.0 (0.2 - 0.4)$	$0.3 \pm 0.0 (0.3 - 0.4)$	$0.3 \pm 0.0 (0.3-0.4)$
WPF IV	0.3	$0.3 \pm 0.0 (0.2 - 0.4)$	$0.3 \pm 0.1 (0.2 - 0.4)$	$0.3 \pm 0.0 (0.2 - 0.3)$	$0.3 \pm 0.0 (0.3-0.3)$

Vocalização

O canto de *Allobates* sp. nov. apresenta duas notas com tempos e frequências distintas, emitidas de forma irregular ao longo do tempo. A taxa de emissão estimada é de $42,7 \pm 8$ cantos por minuto. Observa-se a presença de intervalos variáveis entre os cantos, cujas causas não podem ser determinadas exclusivamente a partir das gravações. Fatores externos, como predação ou movimentação do indivíduo, podem influenciar esses intervalos.

Além disso, não é possível afirmar que esses intervalos formam séries de cantos regulares, pois não há um padrão consistente nos arranjos temporais observados. (Fig. 11).

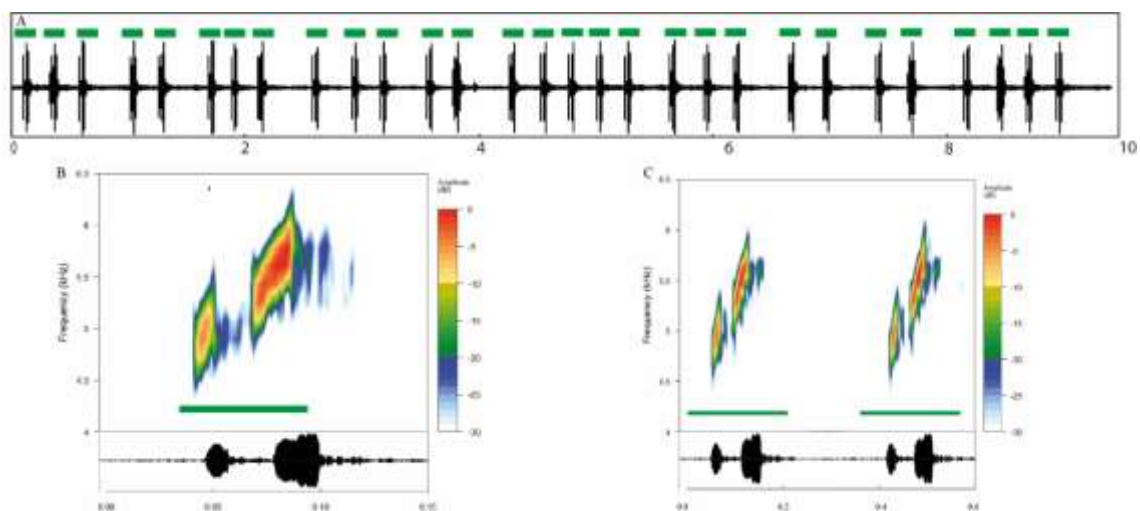


Figura 11. Canto de anúncio de *Allobates* sp. nov. (APL23645). A: Oscilograma mostrando a emissão contínua dos cantos com arranjos variáveis. Espectrogramas e oscilogramas de um canto e dois cantos, respectivamente: B e C. Note que cada canto é composto por duas notas. Temperatura do ar: 25°C. Abreviações: dB, decibéis; kHz, quilohertz.

A duração média de cada canto é de 50 ± 3 ms (43 – 56 ms), com um intervalo entre os cantos 307 ± 82 ms (156 – 477 ms). Há divergência na duração das duas notas, sendo a primeira nota possuindo 13 ± 3 ms (8 – 23 ms), enquanto a segunda nota 19 ± 3 ms (14 – 26 ms), no qual foi constatado que a primeira nota possui duração 50.37% menor do que a segunda, com diferenças significativas (T-teste: $t = -6.9$, $df = 39$, $p\text{-value} = 2,294 \times 10^{-8}$), sendo que o intervalo entre as duas notas, têm em média, 18 ± 4 ms (5 – 24 ms).

A primeira nota apresenta frequência dominante de 5.215 ± 138 Hz ($4.907 - 5.440$ Hz) sendo levemente mais baixa que a segunda nota, 5.541 ± 160 Hz ($5.290 - 5.825$ Hz), com diferença de 6,25% (T-teste: $t = -7.05$, $df = 39$, $p\text{-value} = 1,77 \times 10^{-8}$). A frequência baixa da primeira nota é 4.881 ± 134 Hz ($4.621 - 5.167$ Hz), e é menor que a frequência baixa da segunda nota: 5.121 ± 154 Hz ($4.745 - 5.487$ Hz), com uma diferença de 4,93%, (T-teste: $t = -5,3$ $df = 39$ $p\text{-value} = 3,7 \times 10^{-6}$). A frequência alta da primeira nota é 5.522 ± 152 Hz ($5.203 - 5.835$ Hz) sendo levemente menor que a frequência alta da segunda nota, 5.851 ± 150 Hz ($5.654 - 6.132$ Hz), com 5,95% (T-teste: $t = -7,0$ $df = 39$ $p\text{-value} = 1,8 \times 10^{-8}$). As medidas dos cantos estão presente na Tabela 2.

Tabela 2 – Medidas acústicas de *Allobates* sp. nov. Os parâmetros estão descritos na metodologia. Abreviações: (TA) = Temperatura do Ar, em graus Celsius; NR = Não Registrado. Os parâmetros temporais: DC, IC, DN1, IN e DN2, foram padronizados em milissegundos. Os parâmetros espectrais: FDN1

APL	Localidade	SVL	TA	DC	IC	DN1	IN	DN2	FDN1	FDN2	FBN1	FBN2	FAN1	FAN2
23417	Altamira	16.36	25.6°	44	430	23	5	24	5,004	5,364	4,781	4,986	5,267	5,662
23435	Altamira	15.83	24.9°	53	437	16	9	26	5,440	5,825	5,167	5,487	5,732	6,132
23641	São João	16.36	27.1°	49	336	8	21	18	5,003	5,290	4,621	4,745	5,425	5,717
23642	São João	16.23	27.0°	48	193	12	18	18	5,213	5,414	4,907	5,141	5,498	5,768
23645	São João	16.64	26.0°	46	195	10	18	18	4,907	5,457	4,628	5,026	5,203	5,739
23644	São João	16.64	26.0°	47	284	10	21	15	5,207	5,486	4,875	5,005	5,507	5,767
23622	Vila União	16.44	26.9°	51	226	16	15	21	5,270	5,640	4,913	5,274	5,584	5,884
23623	Vila União	16.10	26.6°	52	347	13	17	22	5,334	5,698	4,967	5,315	5,672	6,039
23626	Vila União	16.04	26.2°	52	300	11	21	19	5,323	5,490	4,968	5,141	5,558	5,805
23629	Vila União	15.75	25.0°	55	323	14	20	21	5,186	5,336	4,958	5,054	5,406	5,674
23621	Vila União	16.03	26.5°	51	214	13	18	20	5,286	5,758	4,971	5,322	5,569	5,988
23674	Eiru	15.34	28.4°	43	156	12	18	14	5,106	5,388	4,828	5,085	5,426	5,661
23476	Eiru	15.68	25.3°	49	318	10	23	16	5,098	5,608	4,681	5,118	5,378	5,956
23477	Eiru	16.76	25.4°	52	477	13	23	16	5,406	5,605	5,077	5,222	5,753	5,923
23478	Eiru	16.08	25.4°	50	267	11	22	17	5,218	5,453	4,888	5,072	5,552	5,797
23479	Eiru	16.76	25.0°	52	324	14	19	19	5,203	5,490	4,927	5,140	5,424	5,769
NR	Eiru	NR	25.0°	52	363	12	24	17	5,179	5,333	4,757	4,979	5,538	5,654
23548	Zacarias	15.86	26.5°	48	323	11	18	19	5,424	5,773	4,951	4,993	5,835	6,087
23550	Zacarias	16.15	26.2°	50	297	12	17	20	5,191	5,582	4,923	5,157	5,493	5,839
23551	Zacarias	16.65	26.2°	56	336	13	19	23	5,306	5,700	4,865	5,142	5,604	6,048

23552	Zacarias	15.87	26.2°	51	299	14	18	20	5,217	5,677	4,851	5,145	5,551	5,964
Média	-	16.18	26.1°	50	307	13	18	19	5,215	5,541	4,881	5,121	5,522	5,851
Desvio Padrão	-	0.39	0.9°	3	82	3	4	3	138	160	134	154	152	150
Mínimo	-	15.34	24.9°	43	156	8	5	14	4,907	5,290	4,621	4,745	5,203	5,654
Máximo	-	16.76	28.4°	56	477	23	24	26	5,440	5,825	5,167	5,487	5,835	6,132

Comparação bioacústica

O canto de anúncio de *Allobates* sp. nov. apresenta canto composto por duas notas, diferindo do canto de *A. bacurau*, *A. caldwellae*, *A. crombiei*, *A. juami*, *A. nunciatus*, *A. tinae*, *A. velocicantus*, *A. paleovarzensis*, *A. tapajos*, *A. carajas*, *A. flaviventris*, *A. fuscelus*, *A. kamilae*, *A. magnussoni*, *A. marchesianus*, *A. masniger*, *A. nidicola*, *A. nunciatus*, *A. paleci*, *A. paleovarzensis*, *A. subfolionidificans*, *A. sumtuosus*, *A. velocicantus*, *A. grillicantus* e *A. grillisimilis* (apresentam canto composto por uma única nota, emitidas continuamente ou em series); Melo-Sampaio et al., 2018; Souza et al., 2020; Lima et al., 2010; Lima et al., 2015; Simões et al., 2019; Melo-Sampaio et al., 2018; Morales, 2002; Ferrão et al., 2022; Lima et al., 2014; Morales et al., 2002; Morales et al., 2002; Caldwell & Lima, 2003; Moraes et al., 2019; Silva et al., 2022; Lima et al., 2010; Lima et al. 2007; Simões et al., 2013; Souza et al., 2020; Simões et al., 2013 e também do canto de *A. gasconi* sensu lato (cantos com até quatro notas; Morales, 2002).

Allobates sp. nov. emite canto com duas notas em intervalos irregulares, que o difere de: e *A. trilineatus* (canto com duas notas em series regulares de 6 a 11 cantos, e intervalos longos e frequência dominante $5.330 \pm 2,2$ Hz e duração do canto de 1240 ± 170 ms); *A. flaviventris* (notas em series regulares, com duração parecidas, e frequência dominante 3.617– 4.651 Hz).

Allobates sp. nov. está incluído no recém complexo *A. albiventris* (Souza et al., 2023), portanto as comparações foram focadas entre as duas espécies. As comparações entre *A. albiventris* e *Allobates* sp. nov mostraram diferenças significativas em várias variáveis acústicas. *Allobates* sp. nov. apresentou uma média maior no intervalo entre os cantos (0.3069) em comparação a *A. albiventris* (0,2171), com uma diferença de 29,26% (T-teste: $t = -4,6709$ $df = 36$ $p\text{-value} < 0.0008$). A Frequência dominante da nota 1 (FDN1) de *A. albiventris* foi em média maior (5.405 Hz) que *Allobates* sp. nov (5,215Hz), resultando em uma diferença de 3,65% (T-teste: $t = 3,33$ $df = 36$ $p\text{-value} = 0.002$). Finalmente, na variável FDN2, *A. albiventris* teve uma média de 5.846 Hz, sendo maior à de *Allobates* sp. nov. (5.541 Hz), com uma diferença de 5,53% (T-teste: $t = 4.57$, $df = 36$, $p\text{-value} < 0.005$).

Os parâmetros temporais e espectrais foram sumarizados em PCA's (PCA1 e PCA2), e observamos como as variáveis contribuem para cada componente. As PCA1 e PCA2 contribuíram e explicaram 71,37% da sumarização dos parâmetros acústicos. O

teste MANOVA revelou uma diferença significativa entre os grupos *A. albiventris* e *Allobates* sp. nov. com base nos componentes principais PCA1 e PCA2. O teste resultou em um valor de (Pillai = 0,3880 F = 11 p < 0,0001) indicando uma diferença altamente significativa entre os grupos. Esta análise sugere que as variáveis representadas por PCA1 e PCA2 contribuem de maneira distinta para a separação dos grupos, revelando diferenças claras entre as características bioacústicas dos dois grupos. Fato que é visualizado nos “scores” que são representações das posições dos parâmetros nos componentes principais.

Os scores dos componentes principais revelam que *Allobates* sp. nov. e *A. albiventris* têm padrões distintos nas dimensões das PCA's. Para *Allobates* sp. nov. os valores de PCA1 variam de -2.1549 a 3.8960, enquanto os valores de PCA2 variam de -1.8009 a 5.9968. *A. albiventris* apresenta valores de PCA1 que vão de -5.3794 a 2.8026 e valores de PCA2 que variam de -2.1511 a 1.3199. Essas diferenças nos scores indicam que as duas espécies se distribuem de maneira diferente ao longo dos componentes principais. *Allobates* sp. nov. tende a ter valores de PCA1 mais positivos e valores de PCA2 mais variados, enquanto *A. albiventris* apresenta valores de PCA1 predominantemente negativos e valores de PCA2 com uma faixa menor. Essa separação nos scores dos componentes principais reflete variações significativas nos parâmetros que estão sendo representados por PCA1 e PCA2, destacando diferenças ecológicas ou morfológicas entre os grupos (Fig. 12)

Allobates conspicuus, *A. fuscus*, *A. pacaas* e *A. vanzolinius* não possuem canto de anúncio descrito.

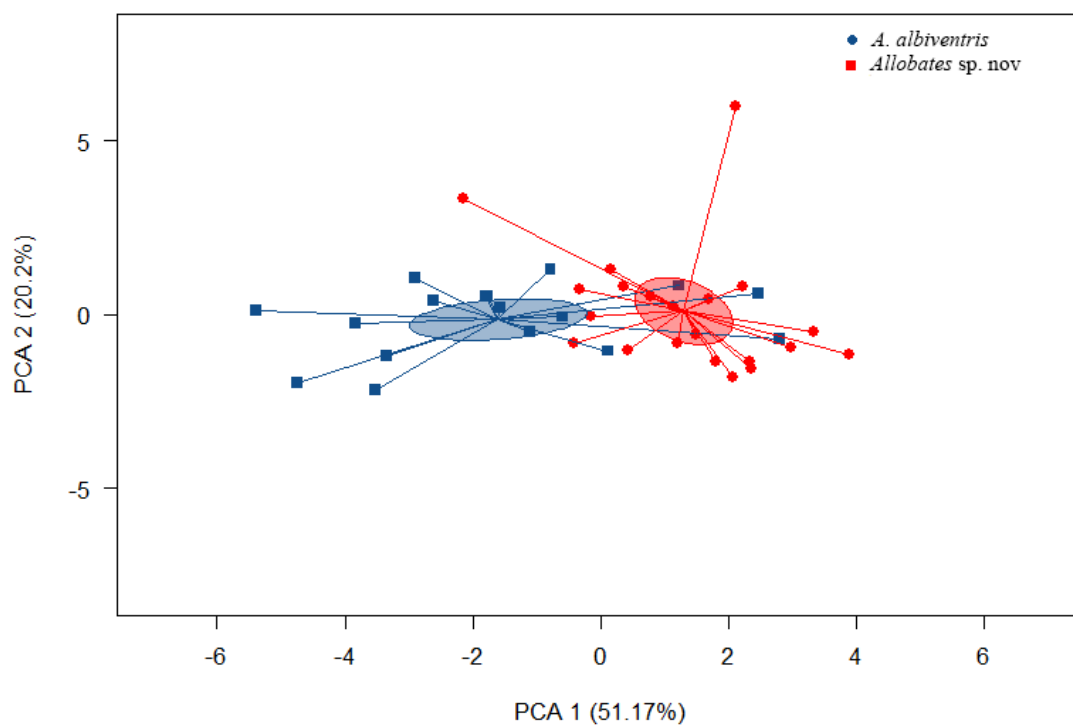


Figura 12: Relações entre PCA1 e PCA2 inferidas por Análises de Componentes Principais baseadas em 11 parâmetros acústicos de cantos de anúncio de machos de *Allobates* sp. nov. e *A. albiventris*. Elipses significam erro padrão com intervalo de confiança = 95%. Os pontos com as linhas representam as distâncias de cada indivíduo em relação ao centroide.

Distribuição e história natural

Na região de Eirunepé, diversas comunidades se distribuem ao longo da bacia do Rio Juruá. *Allobates* sp. nov. foi registrado em diferentes pontos: na margem oeste do Rio Eiru, na Comunidade de Eiru; na margem leste do Rio Gregório, na Comunidade Zacarias; e em três localidades na margem leste do Rio Juruá — São João, Vila União e Altamira. Essas regiões apresentam mata ciliar e latifoliada, com áreas inundáveis que incluem poças, troncos caídos, igapós e zonas de terra firme. (Fig. 13).



Figura 13. História natural de *Allobates* sp. nov.: (a) área com poças naturais no solo em Eiru; (b) habitat natural com um macho de *Allobates* sp. nov. vocalizando sobre o tronco; (c) padrão de floresta latifoliada da região de Eiru. Fotos: Albertina Lima.

Allobates sp. nov. foi encontrado na serrapilheira, sobre folhas secas, troncos ou diretamente no solo, tanto em áreas de terra firme quanto em igapós. Quando localizado sobre folhas, sua posição variou de 8 a 50 cm de altura (Fig. 14a). Trata-se de uma espécie diurna, com reprodução sazonal durante o período chuvoso, de novembro a março. A vocalização ocorre no início da manhã, entre 5h30 e 10h30, e no período da tarde, entre 15h45 e 17h55. As desovas foram encontradas sobre folhas secas, na face adaxial, apresentando uma porção gelatinosa clara e transparente, com ovos recém-postos de coloração cinza. Os machos defendem territórios, embora os limites não sejam claramente definidos, e competem por fêmeas. Na presença destas, o canto de anúncio pode se alterar, passando de duas para até cinco notas. A vocalização dos machos ocorre sobre o solo, troncos ou folhas, a alturas entre 8 e 40 cm (Fig. 14b)

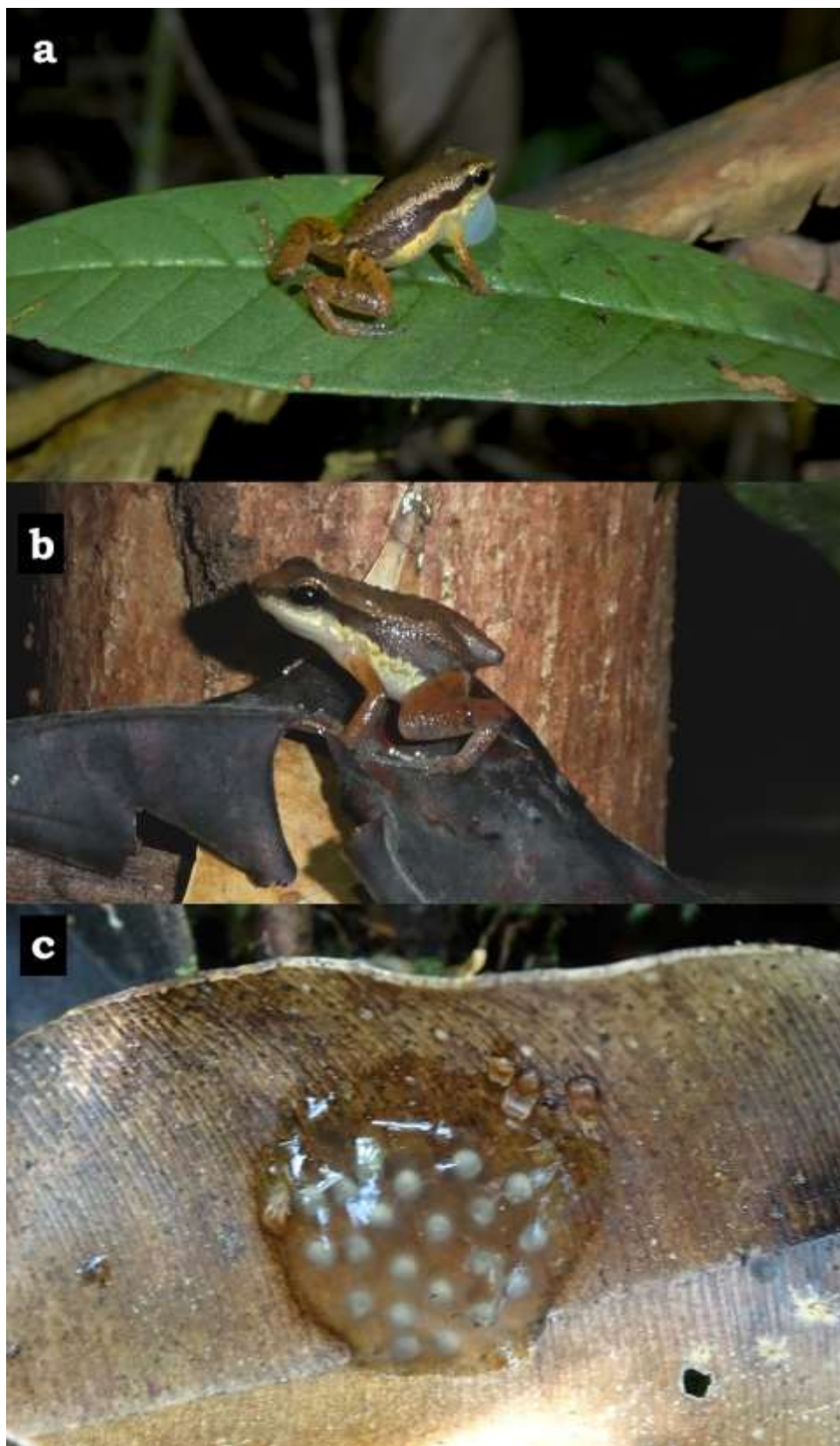


Figura 14: Registros fotográficos de machos de *Allobates* sp. nov., em vida em seu habitat natural. (a) macho de *Allobates* sp nov. vocalizando na região adaxial de uma folha; (b) macho de *Allobates* sp. nov. no solo em cima de uma folha seca; (c) desova contendo 21 ovos de *Allobates* sp. nov. na região de Eiru. Fotos: Albertina Lima.

Descrição do Girino

O girino de *Allobates* sp. nov. apresenta um corpo arredondado com ponta acuminada, visível de qualquer posição. O comprimento total médio é de $17,17 \pm 1,19$ mm, com o corpo medindo $5,79 \pm 0,50$ mm, o que corresponde a 33,72% do comprimento total. O corpo é mais comprido do que largo, com uma largura média de $3,98 \pm 0,40$ mm, representando 23,15% do comprimento total. A cauda tem um comprimento médio de $11,43 \pm 0,78$ mm, correspondendo a 66,61% do comprimento total. O corpo é achatado lateralmente, com uma altura média de $2,29 \pm 0,25$ mm, o que equivale a 57,75% da largura do corpo, tornando-o mais largo do que alto. O tubo do espiráculo é sinistro, translúcido e livre de melanóforos, com uma abertura muito pequena ($0,28 \pm 0,07$ mm) e um comprimento de $1,18 \pm 0,32$ mm, representando 29,85% da largura do corpo. A distância entre olho e narina ($1,04 \pm 0,11$ mm) é ligeiramente maior que o diâmetro dos olhos ($0,95 \pm 0,09$ mm), com a razão entre essas medidas sendo de 9,63%. O músculo caudal é robusto e proeminente, com largura média de $1,45 \pm 0,25$ mm, correspondendo a 36,36% da largura do corpo. É visível desde a região dorso-central e apresenta uma coloração esbranquiçada que se intensifica na base, onde se conecta ao corpo.

É possível ver seu aparelho digestivo e o espiráculo a olho nu, e o aparelho digestivo disposto transversalmente do lado esquerdo, com abertura dextral. A cor da região ventral é pálida esbranquiçada, com melanóforos distribuídos, com maior intensidade na região ventro-lateral, sendo possível identificar saliências, que na região central, são mais aprofundadas, com melanóforos distribuídos lateralmente. Seu aparelho oral é disposto ântero ventralmente, com largura média OD = 1.44 ± 0.20 mm, com ambas laterais invaginadas, com 2 a 4 papilas presentes, sendo curtas e arredondadas. Possui de 3 a 6 papilas marginais piramidais, curtas e de tamanho variável, no lábio anterior. De 8 a 14 papilas inferiores, são levemente alongadas e piramidais, com tamanhos variáveis. Possui duas fileiras de dentes no lábio anterior, sendo a A-1 completa, com sobreposição variável, a segunda fileira (A-2) possui um gap medial, que possui tamanho médio A2-GAP = 0.41 ± 0.08 mm. A fórmula labial é 2(2) / 3(1), A2 é levemente maior que A1, com aproximadamente 2,32%. No lábio posterior há 3 linhas de dentes, a fileira de dentes P1 é a única interrompida com um gap, e é menor que a P2, enquanto a P3 é menor que as outras duas, ficando a proporção $P2 > P1 > P3$ ($P1 = 0.93 \pm 0.10$ mm; $P2 = 0.91 \pm 0.06$ mm; $P3 = 0.90 \pm 0.15$ mm). Linha lateral não visível. A bainha das mandíbulas superior

e inferior são serrilhadas, com formato de arco e “V” obtuso. Sua cauda é acuminada e sem flagelos, apresentando ondulações na borda superior, sendo a nadadeira superior mais profunda que a inferior por 2/3 da cauda.

Em preservativo, possui coloração creme com melanóforos bem distribuídos, principalmente no dorso, cauda com melanóforos com áreas translúcidas nas nadadeiras superiores e inferiores, existem manchas castanho claro, que formam faixas irregulares verticais, lembrando um tom zebrado. Seu ventre apresenta cor creme opaco com melanóforos, próximo da região da boca, e translúcido na área do intestino, livre de melanóforos (Fig. 15).

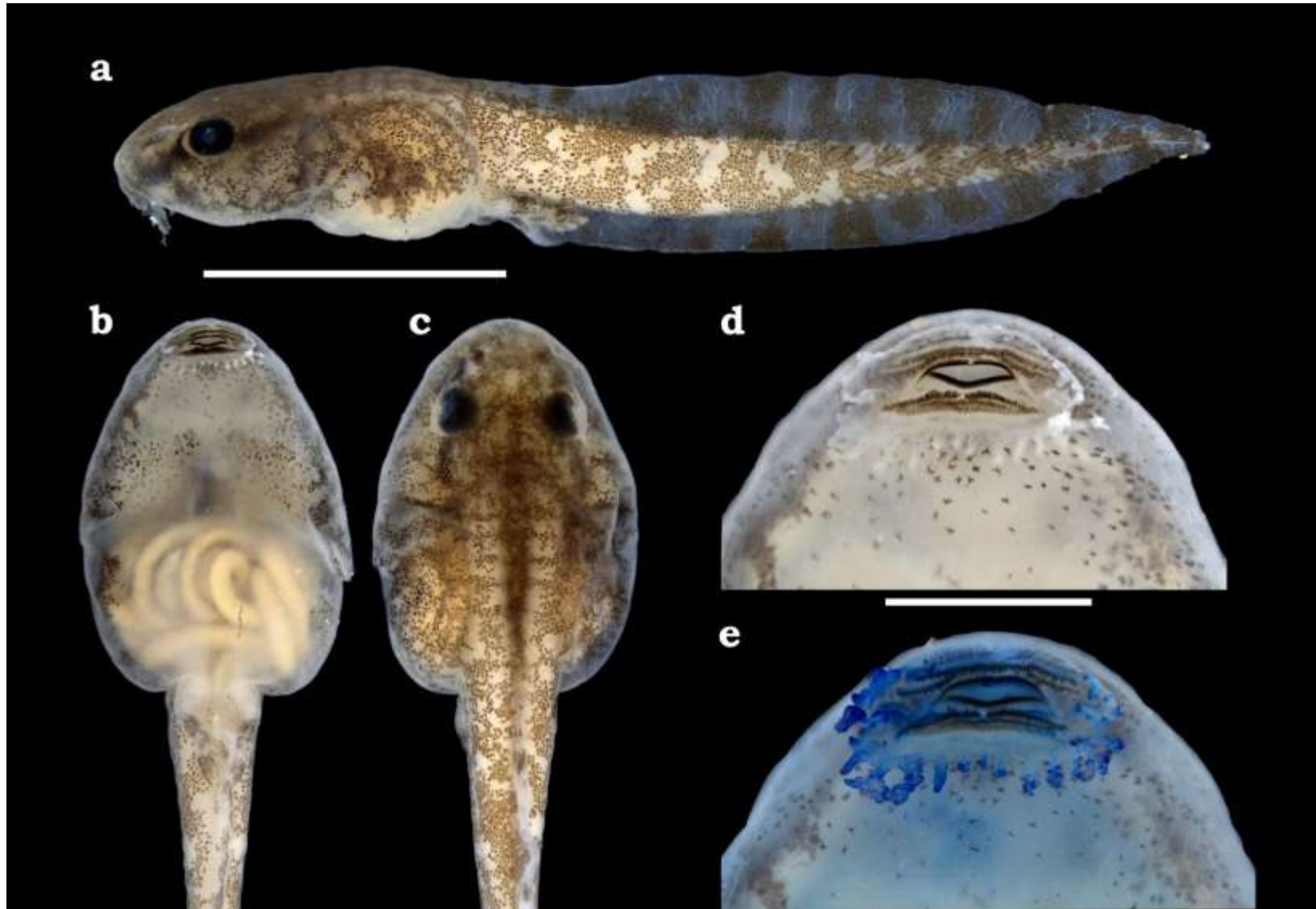


Figura 15. Girino de *Allobates* sp. nov. coletados em Eiru (lote APL23699), estágio 36 de Gosner. Vistas lateral (a), ventral (b), dorsal (c), vista ventral do disco oral (d); vista ventral do disco oral pigmentado com azul de metileno (e). Barras de escala: (a), (b), (c) 2 mm; (d), (e) 0.5

Comparações entre Girinos

Allobates sp. nov. possui duas fileiras de dentes no lábio anterior, três linhas de dentes no lábio posterior que a diferencia de *A. marchesianus*, *A. gasconi* (apenas duas fileiras de dentes); os girinos de *Allobates* sp. nov. possui de 3 a 6 papilas marginais, que o diferencia de *A. grillisimilis* (ausente no lábio anterior); *A. gasconi* (somente duas papilas de cada lado); *A. subfolionidificans* (seis papilas em cada lado); *A. tapajos* (quatro ou cinco papilas). *Allobates* sp. nov. possui de 8 a 14 papilas inferiores levemente alongadas e piramidais, que o diferencia de *A. caldwellae* (papilas inferiores curtas); *A. grillisimilis* (papilas inferiores demasiadamente alongadas); *A. nunciatus* (papilas curtas e redondas). *Allobates* sp. nov. possui $P2 > P1 > P3$, que o diferencia de *A. caldwellae* ($P1 = P2 > P3$); *A. grillisimilis* ($P3 = P2 = P1$). *Allobates* sp. nov. possui cauda com melanóforos, formando faixas verticais com tons castanho claro, lembrando um tom zebreado que o diferencia de *Allobates gasconi* sensu lato (cauda pouco pigmentada, com manchas marrons); *A. albiventris* (cauda pigmentada com manchas marrons, remetendo padrão marmorizado).

Tabela 3: Medidas morfométricas de 28 girinos de *Allobates* sp. nov., estágio Gosner 31, 33, 34, 36, 37, de Eiru, Eirunepé – Amazonas. Os valores representam média $\pm$ desvio padrão (intervalos). As siglas dos caracteres são definidas no texto; n= tamanho da amostra.

Medidas	Estágio 31, n = 6	Estágio 33, n = 3	Estágio 34, n = 10	Estágio 36, n = 3	Estágio 37, n = 6
TL	15.5 $\pm$ 0.8 (14.5 – 16.5)	16.7 $\pm$ 0.4 (16.3 – 17.1)	17.6 $\pm$ 0.4 (16.8 – 18.1)	18.1 $\pm$ 0.4 (17.8 - 18.5)	18.3 $\pm$ 0.7 (17.8 – 19.5)
TAL	10.4 $\pm$ 0.6 (9.6 – 11)	11.7 $\pm$ 0.4 (10.7 – 11.5)	11.6 $\pm$ 0.5 (10.8 – 12.4)	12.0 $\pm$ 0.1 (11.9 - 12.1)	12.1 $\pm$ 0.5 (11.4 – 12.9)
BL	5.3 $\pm$ 0.2 (4.9 – 5.6)	5.6 $\pm$ 0.4 (5.2 – 5.9)	5.92 $\pm$ 0.4 (5.1 – 6.4)	5.9 $\pm$ 0.2 (5.7 – 6.1)	6.1 $\pm$ 0.3 (5.9 – 6.5)
BH	2.1 $\pm$ 0.1 (1.9 – 2.3)	2.2 $\pm$ 0.1 (2.2 – 2.3)	2.2 $\pm$ 0.3 (1.7 – 2.6)	2.4 $\pm$ 0.2 (2.6 – 2.6)	2.5 $\pm$ 0.1 (2.3 – 2.8)
DMH	0.9 $\pm$ 0.1 (0.8 – 1.0)	0.9 $\pm$ 0.1 (0.9 – 1.0)	1.0 $\pm$ 0.1 (0.8 – 1.1)	1.1 $\pm$ 0.0 (1.0 – 1.1.)	1.0 $\pm$ 0.1 (0.8 – 1.2)
VMH	0.6 $\pm$ 0.1 (0.5 – 0.7)	0.6 $\pm$ 0.1 (0.6 – 0.7)	0.6 $\pm$ 0.1 (0.5 – 0.8)	0.7 $\pm$ 0.1 (0.6 – 0.8)	0.6 $\pm$ 0.1 (0.5 – 0.8)
TMH	1.1 $\pm$ 0.1 (1.1 – 1.3)	1.3 $\pm$ 0.1 (1.2 – 1.4)	1.3 $\pm$ 0.2 (1.0 – 1.5)	1.5 $\pm$ 0.2 (1.3 – 1.6)	1.5 $\pm$ 0.1 (1.5 – 1.6)
VTL	0.9 $\pm$ 0.2 (0.6 – 1.1)	1.4 $\pm$ 0.2 (1.2 – 1.6)	1.2 $\pm$ 0.1 (1.1 – 1.3)	1.5 $\pm$ 0.2 (1.3 – 1.6)	1.2 $\pm$ 0.3 (0.9 – 1.6)
ESD	1.6 $\pm$ 0.2 (1.1 – 1.7)	1.6 $\pm$ 0.1 (1.5 – 1.7)	1.8 $\pm$ 0.1 (1.6 – 2.0)	1.9 $\pm$ 0.1 (1.8 – 2.0)	2.0 $\pm$ 0.2 (1.8 – 2.3)
NSD	0.7 $\pm$ 0.1 (0.6 – 0.8)	0.8 $\pm$ 0.1 (0.7 – 0.9)	0.9 $\pm$ 0.2 (0.5 – 1.2)	0.9 $\pm$ 0.2 (0.8 – 1.1)	1.0 $\pm$ 0.1 (0.7 – 1.1)
ED	0.9 $\pm$ 0.1 (0.8 – 1.0)	0.9 $\pm$ 0.1 (0.8 – 0.9)	1.0 $\pm$ 0.1 (0.8 – 1.0)	1.0 $\pm$ 0.1 (0.9 – 1.0)	1.0 $\pm$ 0.0 (1.0 – 1.1)
ND	0.1 $\pm$ 0.0 (0.1 – 0.1)	0.2 $\pm$ 0.0 (0.1 – 0.2)	0.1 $\pm$ 0.0 (0.1 – 0.2)	0.1 $\pm$ 0.0 (0.1 – 0.2)	0.2 $\pm$ 0.0 (0.1 – 0.2)
END	1.0 $\pm$ 0.1 (0.8 – 1.1)	0.9 $\pm$ 0.0 (0.9 – 1.0)	1.0 $\pm$ 0.1 (1.0 – 1.2)	1.1 $\pm$ 0.1 (1.0 – 1.1)	1.1 $\pm$ 0.1 (1.0 – 1.3)
STL	1.1 $\pm$ 0.3 (0.8 – 1.6)	1.0 $\pm$ 0.2 (0.8 – 1.3)	1.3 $\pm$ 0.4 (0.4 – 1.8)	1.2 $\pm$ 0.2 (1.1 – 1.5)	1.0 $\pm$ 0.3 (0.5 – 1.2)
SW	0.5 $\pm$ 0.1 (0.4 – 0.6)	0.6 $\pm$ 0.1 (0.5 – 0.7)	0.6 $\pm$ 0.1 (0.5 – 0.9)	0.7 $\pm$ 0.1 (0.6 – 0.8)	0.6 $\pm$ 0.0 (0.6 – 0.7)
WOS	0.2 $\pm$ 0.0 (0.2 – 0.3)	0.3 $\pm$ 0.0 (0.3 – 0.3)	0.3 $\pm$ 0.1 (0.2 – 0.4)	0.3 $\pm$ 0.1 (0.2 – 0.4)	0.3 $\pm$ 0.0 (0.3 – 0.4)
SH	1.1 $\pm$ 0.3 (0.6 – 1.5)	1.0 $\pm$ 0.1 (1.0 – 1.1)	1.2 $\pm$ 0.3 (0.9 – 1.7)	1.3 $\pm$ 0.3 (1.0 – 1.6)	1.3 $\pm$ 0.3 (0.4 – 1.6)
MTH	2.6 $\pm$ 0.2 (2.0 – 2.5)	2.6 $\pm$ 0.1 (2.6 – 2.6)	2.6 $\pm$ 0.2 (2.2 – 2.8)	2.9 $\pm$ 0.2 (2.7 - 3.0)	3.0 $\pm$ 0.1 (2.9 – 3.1)
BW	3.5 $\pm$ 0.2 (3.1 – 3.8)	3.8 $\pm$ 0.1 (3.6 – 3.9)	3.9 $\pm$ 0.2 (3.5 – 4.2)	4.4 $\pm$ 0.3 (4.0 – 4.6)	4.4 $\pm$ 1.2 (4.1 – 4.6)
TMW	1.2 $\pm$ 0.1 (1.1 – 1.3)	1.3 $\pm$ 0.1 (1.2 – 1.4)	1.4 $\pm$ 0.2 (1.2 – 1.7)	1.6 $\pm$ 0.2 (1.4 – 1.8)	1.7 $\pm$ 0.1 (1.6 – 1.9)
IOD	1.7 $\pm$ 0.1 (1.5 – 1.8)	1.7 $\pm$ 0.1 (1.6 – 1.8)	1.8 $\pm$ 0.1 (1.6 – 2.0)	1.9 $\pm$ 0.2 (1.6 – 2.0)	2.1 $\pm$ 0.1 (2.0 – 2.2)
IND	1.2 $\pm$ 0.1 (1.0 – 1.3)	1.3 $\pm$ 0.0 (1.2 – 1.3)	1.3 $\pm$ 0.1 (1.0 – 1.6)	1.5 $\pm$ 0.0 (1.4 – 1.5)	1.4 $\pm$ 0.3 (0.9 – 1.6)
OD	1.2 $\pm$ 0.1 (1.1 – 1.2)	1.4 $\pm$ 0.1 (1.3 – 1.6)	1.4 $\pm$ 0.1 (1.2 – 1.6)	1.6 $\pm$ 0.3 (1.5 – 1.9)	1.6 $\pm$ 0.1 (1.5 – 1.8)
AL	0.3 $\pm$ 0.0 (0.3 – 0.4)	0.3 $\pm$ 0.0 (0.3 – 0.3)	0.3 $\pm$ 0.1 (0.3 – 0.4)	0.4 $\pm$ 0.1 (0.3 – 0.4)	0.4 $\pm$ 0.0 (0.3 – 0.4)
PL	0.2 $\pm$ 0.0 (0.2 – 0.3)	0.2 $\pm$ 0.0 (0.3 – 0.2)	0.3 $\pm$ 0.3 (0.2 – 1.0)	0.2 $\pm$ 0.1 (0.2 – 0.3)	0.3 $\pm$ 0.0 (0.2 – 0.3)
A2-GAP	0.3 $\pm$ 0.0 (0.3 – 0.4)	0.5 $\pm$ 0.1 (0.3 – 0.6)	0.4 $\pm$ 0.1 (0.3 – 0.5)	0.4 $\pm$ 0.0 (0.3 – 0.4)	0.4 $\pm$ 0.1 (0.3 – 0.5)
A1	0.9 $\pm$ 0.1 (0.8 – 1.1)	1.0 $\pm$ 0.0 (1.0 – 1.0)	1.1 $\pm$ 0.1 (1.0 – 1.3)	1.1 $\pm$ 0.1 (1.0 – 1.2)	1.2 $\pm$ 0.1 (1.0 – 1.3)

A2	0.9 ± 0.1 (0.9 – 1.1)	1.1 ± 0.2 (0.9 – 1.2)	1.1 ± 0.1 (0.9 – 1.2)	1.2 ± 0.0 (1.1 – 1.2)	1.2 ± 0.2 (1.0 – 1.4)
MP	0.2 ± 0.0 (0.1 – 0.2)	0.2 ± 0.0 (0.2 – 0.2)	0.2 ± 0.0 (0.1 – 0.2)	0.2 ± 0.1 (0.1 – 0.2)	0.1 ± 0.0 (0.1 – 0.2)
P1	0.7 ± 0.1 (0.6 – 0.8)	1.0 ± 0.1 (0.8 – 1.0)	0.9 ± 0.1 (0.8 – 1.1)	1.0 ± 0.0 (0.9 – 1.0)	1.0 ± 0.2 (0.8 – 1.2)
P2	0.8 ± 0.1 (0.6 – 0.8)	1.0 ± 0.2 (0.9 – 1.2)	0.9 ± 0.1 (0.8 – 1.0)	0.9 ± 0.1 (0.8 – 1.0)	1.0 ± 0.1 (0.9 – 1.1)
P3	0.7 ± 0.1 (0.5 – 0.9)	1.0 ± 0.3 (0.7 – 1.2)	0.9 ± 0.2 (0.7 – 1.1)	1.0 ± 0.2 (0.8 – 1.2)	1.0 ± 0.3 (0.5 – 1.2)
LP	0.6 ± 0.1 (0.6 – 0.7)	0.7 ± 0.0 (0.7 – 0.7)	0.7 ± 0.1 (0.5 – 0.8)	0.7 ± 0.0 (0.7 – 0.7)	0.8 ± 0.1 (0.7 – 1.0)
LJ	0.4 ± 0.0 (0.3 – 0.5)	0.5 ± 0.0 (0.4 – 0.5)	0.5 ± 0.0 (0.4 – 0.6)	0.6 ± 0.1 (0.5 – 0.6)	0.6 ± 0.1 (0.5 – 0.7)
UJ	0.2 ± 0.0 (0.2 – 0.3)	0.2 ± 0.0 (0.2 – 0.2)	0.2 ± 0.0 (0.1 – 0.3)	0.2 ± 0.1 (0.2 – 0.3)	0.2 ± 0.0 (0.2 – 0.2)

Discussão

A diversificação da espécie *Allobates* na Amazônia tem sido um tema de grande interesse na biogeografia histórica, especialmente no contexto do sistema Pebas. O sistema Pebas, um vasto sistema lacustre que dominou a Amazônia ocidental entre 23 e 10 milhões de anos atrás (Mya), teve um impacto significativo na biogeografia dos anuros da região. Esse ambiente aquático e instável criou barreiras ecológicas que limitaram a dispersão de espécies terrestres, como os *Allobates*, e potencialmente promoveram especiação alopátrica. O estudo de Réjaud et al. (2020) sugere que a diversificação deste gênero ocorreu principalmente in situ, com um pico de diversificação entre 14 e 10 Mya, coincidindo com a fase final do sistema Pebas. Durante o auge desse sistema, muitas áreas da Amazônia ocidental estavam submersas, restringindo a distribuição dos *Allobates*. No entanto, os refúgios nas áreas mais elevadas, especialmente ao longo do sopé dos Andes, podem ter atuado como centros de diversificação. Esse processo é consistente com outras linhagens amazônicas que exibem padrões de especiação semelhantes, onde a formação de habitats temporários e mosaicos ambientais forneceu oportunidades para o isolamento populacional e subsequente especiação.

Por volta de 10 Mya, a drenagem do sistema Pebas levou à formação dos rios amazônicos modernos, alterando significativamente os padrões de dispersão dos *Allobates*. O estudo identificou que, após essa transição, a especiação continuou, mas em um ritmo menor. A distribuição das espécies passou a ser moldada pelos grandes rios amazônicos, que atuaram como barreiras semipermeáveis, limitando o fluxo gênico entre populações adjacentes e promovendo a diversificação por vicariância. Os padrões filogenéticos reconstruídos por Réjaud et al. (2020) mostram que a maioria das linhagens de *Allobates* da Amazônia ocidental se originou nessa região, reforçando a ideia de que a diversificação ocorreu principalmente localmente, ao invés de por colonização vinda de outras partes da Amazônia. Além disso, houve pouca evidência de dispersão significativa entre o Escudo Brasileiro e o Escudo das Guianas, indicando que essas regiões permaneceram relativamente isoladas durante a história evolutiva do gênero. Vários estudos contribuíram para reduzir equívocos taxonômicos relacionados a *Allobates gasconi* (Morales, 2002), como os de Melo-Sampaio et al. (2018) e Réjaud et al. (2020), que propuseram linhagens divergentes de *A. gasconi* sensu stricto e o clado *A. caerulodactylus* como forma de organização do grupo. No entanto, Ferreira et al. (2023) evidenciaram que *A. gasconi* sensu stricto não integra o clado *A. caerulodactylus*, mas

compõe o clado *A. trilineatus*, que são clados irmãos e representam várias linhagens divergentes. Interessantemente, todas as espécies anteriormente referenciadas a *A. gasconi* sensu stricto foram alinhadas no clado *A. caerulodactylus* (Grant et al. 2006, Lima et al. 2014, Melo-Sampaio 2018, Réjaud et al. 2020, Vacher et al. 2020).

A subestimação da biodiversidade amazônica tem sido um problema recorrente, e muitos grupos de anuros aguardam descrições formais. Com a descrição de *A. albiventris* e a organização do complexo *A. albiventris*, Souza et al. (2023) sugeriram que existem outras quatro linhagens como potenciais espécies candidatas. A espécie analisada neste estudo apresentou várias características que a diferenciam de *A. albiventris*, incluindo variações na textura dorsal e no padrão de coloração. Essas diferenças podem estar ligadas a barreiras reprodutivas ou adaptações ecológicas específicas. *Allobates* sp. nov. apresentou variações morfométricas distintas de *A. albiventris*, com textura dorsal tubercular e granular, contrastando com o dorso liso de *A. albiventris*. O tamanho médio do SVL de *Allobates* sp. nov. é 6,0% maior para machos (t-teste: $t = -6,6$ $df = 55$ $p = 1,3 \times 10^{-1}$) e aproximadamente 3,52% maior para fêmeas (t-teste: $t = -2,9$ $df = 23$ $p = 0,008$), além da ausência de padrões em forma de diamante ou ampulheta, presentes em *A. albiventris*. Girinos de *Allobates* sp. nov. possuem papilas dispersas por toda a boca, inclusive nas invaginações, o que não é observado em *A. albiventris*.

Os indivíduos de Altamira apresentaram diferenciações significativas em canto, filogenética, morfologia e acústica, constatadas nos testes de MANOVA, com significância próxima de 5% ($p\text{-valor} = 0,078$). Isso sugere que essa localidade pode estar em processo de especiação em comparação com outras localidades, reforçando a necessidade de mais estudos dentro do gênero e na região do Médio Juruá. A amostra de Altamira destaca-se por sua maior diferenciação genética, possivelmente resultante de múltiplos fatores. O isolamento reprodutivo pode ter surgido devido a diferenças geográficas significativas em relação a outras localidades, como Eiru, Zacarias, São João e Araçazal. Barreiras físicas, como rios, cadeias montanhosas ou fragmentação florestal, além de variações ambientais ou a própria distância geográfica, podem ter desempenhado um papel importante nesse processo. Outra hipótese é a atuação de pressões seletivas específicas da região ou um histórico evolutivo particular que tenha levado a adaptações genéticas distintas na população de Altamira. Existe ainda a possibilidade de essa amostra representar uma linhagem ancestral que divergiu antes das demais populações, preservando características genéticas únicas. Eventos históricos, como processos de

vicariância, também podem ter isolado a população de Altamira, promovendo sua diferenciação. Além disso, é fundamental considerar o tamanho da amostra e a variabilidade genética dentro das populações, já que amostras pequenas podem não capturar toda a diversidade existente.

A biodiversidade amazônica continua a ser subestimada, como destacado por Vacher et al. (2020). Essa subestimação decorre de diversos fatores, incluindo a formação dos interflúvios e barreiras naturais que potencializam a especiação alopátrica e reduzem o fluxo gênico (Lawson, 2013). Muitas espécies com territórios restritos e sobrepostos a outras populações podem ser crípticas, coespecíficas ou ainda desconhecidas, frequentemente compartilhando o mesmo habitat. Esse fenômeno é amplamente disseminado em vários gêneros de anuros, onde a combinação de barreiras geográficas e ecológicas resulta em adaptações específicas aos habitats locais, levando a uma alta variabilidade genética e à especiação (Wollenberg Valero et al., 2019). A diversificação de *Allobates* na Amazônia foi fortemente influenciada pelo sistema Pebas e suas transformações subsequentes. A fase final do Pebas criou condições favoráveis para especiação, enquanto a configuração moderna da rede fluvial da Amazônia contribuiu para moldar os padrões de distribuição das espécies. Esses achados reforçam a complexidade dos processos biogeográficos que deram origem à rica biodiversidade amazônica e enfatizam a importância da pesquisa contínua para elucidar os mecanismos evolutivos que atuam na região.

Financiamento

A coleta de dados deste projeto foi financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas – FAPEAM (Programa Universal, edital 002/2018, proc. No 062.00187/2019) e pelo Harvard Museum of Comparative Zoology. A obtenção de dados moleculares foi financiada pela FAPEAM por meio dos programas Universal (edital 002/2018, proc. No 062.00187/2019) e Biodiversa (edital 007/2021, proc. No 01.02.016301.03252/2021-67). A bolsa de mestrado foi financiada pela FAPEAM por meio do Programa de Apoio à Pós-Graduação stricto sensu – POSGRAD – Edição 2022–2023.

Referências

- Aleixo, A. 2009. Conceitos de espécie e suas implicações para a conservação. *Megadiversidade* 5: 87–95.
- Amphibian Species By the Numbers. 2022. *AmphibianWeb*. (<https://amphibiaweb.org/amphibian/speciesnums.html>). .
- Barrio Amorós, C.L.; Santos, J.C. 2009. Description of a new *Allobates* (Anura, Dendrobatidae) from the eastern piedmont, Venezuela. *Phyllomedusa* 8: 89–104.
- Caldwell, J.P.; Lima, A.P. 2003. A New Amazonian Species of *Colostethus* (Anura: Dendrobatidae) with a Nidicolous Tadpole. *Herpetologica* 59: 219–234.
- Ferrão, M.; Hanken, J.; Lima, A.P. 2022a. A new nurse frog of the *Allobates* tapajos species complex (Anura: Aromobatidae) from the upper Madeira River, Brazilian Amazonia. *PeerJ* 10: 1–36.
- Ferrão, M.; de Souza, R.A.; Colatreli, O.P.; Hanken, J.; Lima, A.P. 2022b. Hidden in the litter: cryptic diversity of the leaf-litter toad *Rhinella castaneotica* – proboscidea complex revealed through integrative taxonomy, with description of a new species from south-western Amazonia . *Systematics and Biodiversity* 20: 1–24.
- Ferrão, M.; Colatreli, O.; De Fraga, R.; Kaefer, I.L.; Moravec, J.; Lima, A.P. 2016. High species richness of scinax treefrogs (hylidae) in a threatened amazonian landscape revealed by an integrative approach. *PLoS ONE* 11: 1–16.
- Ferreira, A.S.; Ferrão, M.; Cunha-Machado, A.S.; Magnusson, W.E.; Hanken, J.; Lima, A.P. 2024. Phylogenetic position of the Amazonian nurse frog *Allobates gasconi* (Morales 2002) revealed by topotypical data. *Organisms Diversity and Evolution* 24: 99–118.
- Fouquet, A.; Leblanc, K.; Fabre, A.-C.; Rodrigues, M.T.; Menin, M.; Courtois, E.A.; et al. 2021. Comparative osteology of the fossorial frogs of the genus *Synapturanus* (Anura, Microhylidae) with the description of three new species from the Eastern Guiana Shield. *Zoologischer Anzeiger* 293: 46–73.
- Frost, D.R. 2021. *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. (<https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>). .
- Gosner, K.L. 1960. A Simplified Table for Staging Anuran Embryos and Larvae with Notes on Identification. *Herpetologica* 16: 183–190.
- Grant, T.; Frost, D.R.; Caldwell, J.P.; Gagliardo, R.; Haddad, C.F.B.; Kok, P.J.R.; et al. 2006. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*: 1–262.
- Hoang, D.T.; Chernomor, O.; von Haeseler, A.; Minh, B.Q.; Vinh, L.S. 2018. UFBoot2:

- Improving the Ultrafast Bootstrap Approximation. *Molecular Biology and Evolution* 35: 518–522.
- Hoogmoed, Ma. 2022. c. Museu Paraense Emílio Goeldi. (http://censo.museu-goeldi.br:8080/museugoeldi-web-1.2.0/paginas/especie_consultar.xhtml). .
- Hortal, J.; De Bello, F.; Diniz-Filho, J.A.F.; Lewinsohn, T.M.; Lobo, J.M.; Ladle, R.J. 2015. Seven Shortfalls that Beset Large-Scale Knowledge of Biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 46: 523–549.
- 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.
- Kearse, M.; Moir, R.; Wilson, A.; Stones-Havas, S.; Cheung, M.; Sturrock, S.; et al. 2012. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28: 1647–1649.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution* 16: 111–120.
- Lima, A.P.; Sanchez, D.E.A.; Souza, J.R.D. 2007. A new amazonian species of the frog genus *Colostethus* (Dendrobatidae) that lays its eggs on undersides of leaves. *Copeia* 8511: 114–122.
- Lima, A.P.; Simões, P.I.; Kaefer, I.L. 2014. A new species of *Allobates* (Anura: Aromobatidae) from the Tapajós River basin, Pará State, Brazil. *Zootaxa* 3889: 355–387.
- Lima, A.P.; Ferrão, M.; Lacerda da Silva, D. 2020. Not as widespread as thought: Integrative taxonomy reveals cryptic diversity in the Amazonian nurse frog *Allobates tinae* Melo-Sampaio, Oliveira and Prates, 2018 and description of a new species. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research* 58: 1173–1194.
- Maddison, W.; Maddison, D. 2015. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. .
- 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: 95–108.
- McDiarmid, R.W.; Altig, R. 1999. *The biology of anuran larvae*. University of Chicago Press, Chicago, 458p.
- Melo-Sampaio, P.R.; Oliveira, R.M.D.; Prates, I. 2018. A new nurse frog from Brazil (Aromobatidae: *Allobates*), with data on the distribution and phenotypic variation of western Amazonian species. *South American Journal of Herpetology* 13: 131–149.
- Morales, V. 2000. Morales,2000-Sistematica Y Biogeografia del grupo trilineatus

- (Amphibia Anura Dendrobatidae Colosthetus) con descripción de once nuevas especies.pdf. : 60.
- Padial, J.M.; Miralles, A.; De la Riva, I.; Vences, M. 2010. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology* 7: 1–14.
- Palumbi, S. 1996. Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. In: *Hillis DM, Moritz C, Mable BK, eds. Molecular systematics. Sunderland: Sinauer & Associates*: 205–247.
- Réjaud, A.; Rodrigues, M.T.; Crawford, A.J.; Castroviejo-Fisher, S.; Jaramillo, A.F.; Chaparro, J.C.; et al. 2020. Historical biogeography identifies a possible role of Miocene wetlands in the diversification of the Amazonian rocket frogs (Aromobatidae: *Allobates*). *Journal of Biogeography* 47: 2472–2482.
- Sánchez, D.A. 2013. Larval morphology of Dart-Poison Frogs (Anura: Dendrobatoidea: Aromobatidae and Dendrobatidae). *Zootaxa* 3637: 569.
- Segalla, M.; Von Muller Berneck, B.; Canedo, C.; Caramaschi, U.; Cruz, C.; Garcia, P.; et al. 2021. List of Brazilian Amphibians. *Herpetologia Brasileira* 10: 121–216.
- Simões, P.I.; Kaefer, I.L.; Farias, I.P.; Lima, A.P. 2013. An integrative appraisal of the diagnosis and distribution of *Allobates sumtuosus* (Morales, 2002) (Anura, Aromobatidae). *Zootaxa* 3746: 401–421.
- Souza, J.R.D.; Ferrão, M.; Kaefer, I.L.; Cunha-machado, A.S.; Melo-sampaio, P.R.; Hanken, J.; et al. 2023. A new pale-ventered nurse frog (Aromobatidae: *Allobates*) from southwestern Brazilian Amazonia. : 647–675
- Souza, J.R.D.; Ferrão, M.; Hanken, J.; Lima, A.P. 2020. A new nurse frog (Anura: *Allobates*) from Brazilian Amazonia with a remarkably fast multi-noted advertisement call. *PeerJ* 8: e9979.
- 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 (São Paulo)* 54: 9–23.
- Tamura, K.; Stecher, G.; Peterson, D.; Filipinski, A.; Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725–2729.
- Trifinopoulos, J.; Nguyen, L.-T.; von Haeseler, A.; Minh, B.Q. 2016. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nucleic Acids Research* 44: W232–W235.
- Vacher, J.P.; Chave, J.; Ficetola, F.G.; Sommeria-Klein, G.; Tao, S.; Thébaud, C.; et al. 2020. Large-scale DNA-based survey of frogs in Amazonia suggests a vast underestimation of species richness and endemism. *Journal of Biogeography* 47: 1781–1791.
- Wollenberg Valero, K.C.; Marshall, J.C.; Bastiaans, E.; Caccone, A.; Camargo, A.;

Morando, M.; et al. 2019. Patterns, mechanisms and genetics of speciation in reptiles and amphibians. *Genes* 10: 1–46.