

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOLOGIA

DOUGLAS LACERDA DA SILVA

Allobates tinae: uma espécie, ou um complexo de espécies semelhantes?

MANAUS-AM
OUTUBRO, 2018

DOUGLAS LACERDA DA SILVA

Allobates tinae: uma espécie, ou um complexo de espécies semelhantes?

Orientadora: Dr^a. Albertina Pimentel Lima

Dissertação apresentada ao programa
de Pós-Graduação em Zoologia da
Universidade Federal do Amazonas
como parte dos requisitos para obtenção
do título de mestre em Zoologia

MANAUS – AM
OUTUBRO, 2018

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S586a	Silva, Douglas Lacerda da Allobates tinae: uma espécie, ou um complexo de espécies semelhantes? / Douglas Lacerda da Silva. 2018 78 f.: il. color; 31 cm. Orientadora: Albertina Pimentel Lima Dissertação (Mestrado em Zoologia) - Universidade Federal do Amazonas. 1. Anuro. 2. Amazônia. 3. Delimitação de espécies. 4. Taxonomia integrativa. I. Lima, Albertina Pimentel II. Universidade Federal do Amazonas III. Título
-------	--

FICHA DE APROVAÇÃO



Poder Executivo
Ministério da Educação
Universidade Federal do Amazonas
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Zoologia



ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

No dia vinte e seis de setembro de dois mil e dezoito, às quatorze horas, na sala de aula do PPG-Zoologia, Prédio das Pós-Graduações FCA-ICB da Universidade Federal do Amazonas, Setor Sul, Manaus, Amazonas, **Douglas Lacerda da Silva** realizou a Defesa Pública de Mestrado intitulada "*Allobate tinae*: uma espécie ou um complexo de espécies semelhantes".

Banca Examinadora:

Membros	Parecer	Assinatura
Dra. Albertina Pimentel Lima	Aprovado (X) Reprovado ()	<i>Albertina Lima</i>
Prof. Dr. Marcelo Menin	Aprovado () Reprovado (X)	<i>Marcelo Menin</i>
Dra. Elisiana Pereira de Oliveira	Aprovado (X) Reprovado ()	<i>Elisiana</i>

Parecer:

Resultado Final: Aprovado (X) Reprovado ()

Local e data: Manaus, 26 Setembro de 20 18

Prof. Dr. Valério Beggato Baecaro
Coordenador do PPG Zoologia
Portaria 2148/2017 - GR/UFAM

AGRADECIMENTOS

Aos órgãos financiadores: Agrademos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), ao Programa de Suporte a Núcleos de Excelência (PRONEX, número 653/2009), CNPq – número 475559/2013-4, ao Programa de Pesquisa em Biodiversidade (PPBio/RAPELD), ao Centro Integrado de Estudos da Biodiversidade Amazônica (INCT – CENBAM) e Santo Antônio Energia S.A pelo suporte financeiro e logístico. Esse estudo foi realizado em grande parte nos módulos ao longo do interflúvio dos rios Purus-Madeira do Programa de Pesquisas em Biodiversidade (PPBio) cuja infraestrutura foi financiada pela FAPPEAM e CNPq à pesquisadora Albertina P. Lima – (# 653/2009) e William Magnusson – (#016/2006).

À orientadora, Dra. Albertina Lima, por compartilhar parte de sua vasta experiência ao longo da execução deste trabalho.

Ao Miquéias Ferrão, por sua grande contribuição, ao ficar noites em claro conduzindo análises genéticas e bioacústicas, e por realizar correções dos manuscritos.

À Kamila Xavier, por separar alíquotas e tecidos.

À Jeni Magnusson, por realizar as medidas dos indivíduos, pelas fotografias e confeccionar as pranchas.

Ao Dr. William Magnusson, pela correção resumo em inglês.

À Dona Irene Melo e sua família, pelo abrigo durante a última expedição de campo para o referido trabalho.

Aos pesquisadores Miquéias Ferrão, Gabriela Maia, Waleska Gravena, Erík Choueri e Igor Kaefer pelas sequências genéticas.

À coordenação do Mestrado do PPG em Zoologia da UFAM.

SUMÁRIO

RESUMO	9
ABSTRACT	10
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE FIGURAS	12
1 INTRODUÇÃO.....	16
2 MATERIAL E MÉTODOS	19
2.1 Área de estudo e procedimentos de coleta	19
2.2 Morfologia.....	20
2.3 Bioacústica	23
2.4 História natural.....	25
2.5 Sequenciamento e análises filogenéticas.....	25
2.6 Análises morfológicas e bioacústicas.....	27
2.7 Comparações taxonômicas	29
3 RESULTADOS	30
3.1 Análises filogenéticas.....	30
3.2 Análises morfológicas	32
3.3 Análises bioacústicas.....	34
4 TAXONOMIA.....	38
4.1 <i>Allobates</i> sp. nov.	38
4.2 Holótipo.....	38
4.3 Paratopótipos.....	38
4.4 Parátipos.....	39
4.5 Material examinado.....	39
4.6 Etimologia	39
4.7 Diagnose Baseada na série tipo (módulos 1, 2 e Estrada de Autazes Km 12)..	39
4.8 Descrição do holótipo.....	41
4.9 Descrição da cor do Holótipo em preservativo	43
4.10 Variação morfológica na série tipo	45
4.11 Variação da cor em vida na série tipo	48
4.13 Descrição dos girinos	52
4.14 Cor de girinos preservados	54
4.15 Cor dos girinos em vida	55
4.16 Comparação dos girinos com outras espécies	56

4.17 Descrição do canto de anúncio.....	57
4.18 Comparação do canto de anúncio com outras espécies.....	59
4.19 História natural.....	61
5 DISCUSSÃO.....	63
6 CONCLUSÃO.....	65
7 MATERIAL SUPLEMENTAR.....	66
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69

Allobates tinae: uma espécie, ou um complexo de espécies semelhantes?

*Douglas Lacerda da Silva¹, Miquéias Ferrão², Albertina Pimentel Lima^{2,3}

¹*Programa de Pós-Graduação em Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Av. General Rodrigo Otávio Jordão Ramos 6200, CEP 69077-000, Manaus, AM, Brasil.*

²*Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brasil.*

³*Coordenação de Biodiversidade, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Amazonas, Brasil.*

* Autor correspondente: douglaslacerda1992@gmail.com

Manuscrito em preparação para submissão ao periódico *Zootaxa*

***Allobates tinae*: uma espécie ou um complexo de espécies semelhantes?**

RESUMO

Allobates tinae não é uma espécie de ampla distribuição como sugerido previamente, mas sim um complexo de espécies semelhantes. Aqui descrevemos uma das quatro espécies do complexo *Allobates tinae* que ocorre na porção norte do interflúvio Purus-Madeira na floresta ombrófila densa. Sugerimos que *Allobates tinae* é uma espécie restrita a porção sul do interflúvio e que habita floresta ombrófila aberta. A nova espécie de *Allobates* descrita nesse estudo pode ser diferenciada facilmente pela combinação dos seguintes caracteres morfológicos: tamanho pequeno, dorso sem manchas ou desenhos de ampulheta; ventre, saco vocal e tórax amarelo em machos e fêmeas com escassos melanóforos, quando presentes concentrados na região da mandíbula; dedo III (IV segundo Grant *et al.* 2017) dos machos de largura uniforme ao longo de todas as falanges; falange distal dos machos mais larga que das fêmeas; dedo III das fêmeas de largura irregular; falange basal mais larga que as falanges medial e distal; antebraço mais curto que o braço. Girinos possuem disco oral emarginado; lábio anterior com 3 ou 4 papilas triangulares e curtas, presente nas margens laterais do lábio; lábio posterior inteiramente cercado por uma fileira de 12 ou 14 papilas triangulares, com tamanho semelhante na margem póstero-lateral e póstero-medial. Cantos de anúncio são compostos por 5 ± 1 (3–7) notas com duração média de $0.041 \text{ s} \pm 0.004$ (0.029–0.054 s), intervalo silencioso entre notas é de $0.15 \text{ s} \pm 0.03$ (0.10–0.23 s), sendo mais curto entre as duas primeiras notas [$0.12 \text{ s} \pm 0.01$ (0.10–0.15 s)] do que entre as duas últimas notas [$0.19 \text{ s} \pm 0.02$ (0.16–0.23 s)], com frequência de pico $5635 \text{ Hz} \pm 209$ (5168–6008 Hz), a frequência baixa $5387 \text{ Hz} \pm 204$ (4849–5817 Hz) e a frequência alta é de $5829 \text{ Hz} \pm 191$ (5374–6206 Hz). A espécie descrita nesse estudo é a 20ª espécie do gênero descrita para a Amazônia brasileira. Resultados filogenéticos sugerem a existência de outras duas espécies candidatas no complexo *A. tinae* aguardando descrição formal.

Palavras-chaves: Anuro, Amazônia, Delimitação de espécies, Taxonomia integrativa

***Allobates tinae*: a single species or a complex of similar species?**

ABSTRACT

Allobates tinae is not a widely distributed species as previously suggested but a complex of cryptic species. In this study, we describe a new species of the *Allobates tinae* complex that inhabits the lowland dense rainforest of the northern Purus-Madeira Interfluvium. We suggest that the distribution of *A. tinae* is restricted to the southern Purus-Madeira Interfluvium and the species inhabits lowland open rainforest. The new species described herein can be easily distinguished by the following combination of morphological characters: small body size; absence of dark blotches or hourglass pattern on dorsum; throat, chest and belly yellow in males and females; when present, melanophores are scarce and found only on the mandible; Finger III (Finger IV following Grant et al. 2017) uniform in width along phalanges; distal phalanx of Finger III larger in males adult than in females; proximal phalanx of Finger III larger than medial and distal phalanges in females; forearm shorter than arm. Tadpoles with emarginated buccal apparatus; three or four triangular papillae on corner of the anterior labium; one row of 12 or 14 short, triangular papillae on posterior labium; similar-sized papillae on posteromedial and posterolateral region of posterior labium. Advertisement call characterized by short trills composed by 5 ± 1 (3–7) notes that last $0.041 \text{ s} \pm 0.004$ (0.029–0.054 s). Average silent interval between notes was $0.15 \text{ s} \pm 0.03$ (0.10–0.23 s), being shorter between the first pair of notes [$0.12 \text{ s} \pm 0.01$ (0.10–0.15 s)] than between the last pair [$0.19 \text{ s} \pm 0.02$ (0.16–0.23 s)]. Peak frequency was $5635 \text{ Hz} \pm 209$ (5168–6008 Hz); lower frequency was $5387 \text{ Hz} \pm 204$ (4849–5817 Hz); upper frequency was $5829 \text{ Hz} \pm 191$ (5374–6206 Hz). The new species described in this study is the 20th species of *Allobates* from the Brazilian Amazonia. Phylogenetic results indicate that there are two candidate species awaiting formal description in the *Allobates tinae* species complex.

Key words: Anuran, Amazon, Species delimitation, Integrative taxonomy

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Partições e modelos evolutivos propostos por critério de inferência Bayesiana através do algoritmo PhyML como implementado no PartitionFinder. Números após o nome dos genes denotam a posição do códon. Acrônimos dos genes são descritos no texto. PT = partições.....27
- Tabela 2.** Distâncias genéticas K2P (diagonal esquerda inferior) e distância não corrigida p (diagonal direita superior) entre clados de *Allobates tinae* identificados como espécies distintas pelo algoritmo bPTP. A linhagem 2 corresponde a *A tinae* descrita por (Melo-Sampaio *et al.* 2018). IPM = Interflúvio Purus-Madeira.32
- Tabela 3.** Contribuição do SVL e 22 razões morfométricas de *Allobates tinae* nos três primeiros Componentes Principais (PC) gerados pela Análise de Componentes Principais. Dados morfométricos foram tomados de 36 machos do clado IPM Norte e 32 machos do IPM Sul. Veja definições dos acrônimos na seção Materiais e Métodos. Valores em negrito denotam as cinco variáveis que mais contribuíram com a formação dos PCs 1–3.34
- Tabela 4.** Sumário dos parâmetros temporais e espectrais do canto de anúncio de representantes dos dois clados de *Allobates tinae* com ocorrência no IPM: clado IPM Norte do módulo M1 da BR-319 (Careiro Castanho, Amazonas) e do km12 da AM-254 (Autazes, Amazonas); clado IPM Sul da margem esquerda do alto rio Madeira (Porto Velho, Rondônia) e margem direita do rio Purus (Boca do Acre, Acre). Valores correspondem a média e desvio padrão, seguidos pela variação (entre parênteses). Acrônimos estão detalhados em Materiais e Métodos.....35
- Tabela 5.** Contribuição de 16 parâmetros bioacústicos de *Allobates tinae* para os dois primeiros Componentes Principais (PC) gerados por Análise de Componentes Principais. Parâmetros temporais e espectrais foram mensurados com base em 9 machos do clado IPM Norte e 8 machos do IPM Sul. Valores em negrito denotam as cinco variáveis que mais contribuíram com os PCs.....36
- Tabela 6.** Vinte e três medidas morfométricas aferida a partir de 40 indivíduos de *Allobates* sp. nov. (36 machos e 4 fêmeas), série-tipo composta por 25 indivíduos das localidades M1 e Km 12 da estrada de Autazes, foram utilizados também quinze indivíduos coletados mais ao norte nos módulos 4, 5, 7 e 8 do RAPELD. Além disso foram medidos 39 indivíduos de *Allobates tinae*, disposição dos dados seguem: média $\pm$ desvio padrão. (Variação).47
- Tabela 7.** Medidas morfométricas obtidas de 17 girinos na localidade tipo [módulo M1 da BR-319 (Careiro Castanho, Amazonas)]. A descrição dos girinos foi pautada nos 12 girinos no estágio 36. Sigas dos caracteres definido em Material e Métodos.53
- Tabela 8.** Sumário dos parâmetros bioacústicos do canto de anúncio de *Allobates* sp. nov. e *Allobates tinae*. Valores correspondem a média e desvio padrão, seguidos pela variação (entre parênteses). * = valores extraídos de Melo-Sampaio *et al.* (2018).....57

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica dos dois clados filogenéticos de *Allobates tinae* com ocorrência nas florestas ombrófilas densas (verde escuro) e abertas (verde claro) do interflúvio Purus-Madeira. Círculos brancos: clado PMI Norte. Círculos vermelhos: clado PMI Sul. Estrela vermelha: localidade tipo de *A. tinae*. Quadrados vermelhos: distribuição dos parátipos de *A. tinae*. Abreviações: AC, Acre; RO, Rondônia; MT, Mato Grosso; AM, Amazonas; BAC, 20 km ao sul de Boca do Acre; TEO, Teotônio; BUF, Ilha de Búfalo; PED, Ilha de Pedras; JIE, Jirau Esquerdo; Km12, km 12 da estrada rodovia AM-254 que liga a BR-319 a cidade de Autazes; M; módulo; N, norte.19

Figura 2. Esquema das medidas morfométricas realizada nos adultos dos dois clados de *Allobates tinae* do IPM. Acrônimos detalhado acima. Fotos: A. P. Lima.21

Figura 3 Esquema das medidas aferidas nos girinos. Acrônimos detalhados acima. Fotos: A. P. Lima.22

Figura 4. Representação visual de três parâmetros utilizados na caracterização do canto de anúncio de *Allobates* utilizados neste estudo. Canto: grupo de notas intercaladas por curtos intervalos silenciosos. Nota: principal subunidade que compõe o canto e no caso de *A. tinae*, não subdividida em pulsos. Intervalo silencioso entre notas: intervalo entre duas notas que compõe o mesmo canto.23

Figura 5. Canto de anúncio de *Allobates* sp. nov. (A, B, E) e *A. tinae* (C, D, F) do interflúvio Purus-Madeira. (A) Canto de anúncio composto por cinco notas: APL 22175, SVL = 15.2 mm, temperatura = 24.8 °C, localidade = M1 (Careiro da Várzea, Amazonas). (B) Canto composto pelo número máximo de notas (7) registrado para *Allobates* sp. nov.: APL 22177, SVL = 16.2 mm, temperatura = 24.7 °C, localidade = M1 (Careiro da Várzea, Amazonas). (C) Canto de anúncio composto por cinco notas: não coletado, temperatura = 25.5 °C, localidade = Jirau Esquerdo (Porto Velho, Rondônia). (D) Canto composto pelo número máximo de notas (13) registrado para a *A. tinae*: APL 21678, SVL = 15.4, temperatura = 25.9 °C, localidade = Boca do Acre (margem direita do rio Purus, Acre). Zoom das duas primeiras notas que compõe o canto de anúncio do espécime APL 22177 (E) e do espécime APL 21678 (F).24

Figura 6. Árvore filogenética de *Allobates* reconstruída por inferência Bayesiana e através de quatro genes mitocondriais (12S, 16S, COI, CYTB) e seis genes nucleares (28S, HH3, RAG1, RHO, SAI, TYR). Retângulo cinza no filograma esquerdo evidencia a porção da árvore filogenética mostrada no lado direito.30

Figura 7. Árvore filogenética (II) de *Allobates* reconstruída por inferência Bayesiana e através de quatro genes mitocondriais (12S, 16S, COI, CYTB) e seis genes nucleares (28S, HH3, RAG1, RHO, SAI, TYR). Probabilidades posteriores (PP) > 0.9.31

Figura 8. DAPC (A) e PCA (B–D) conduzidas com SVL e 22 razões morfométricas de 36 machos do clado IPM Norte (pontos azuis) e 32 machos do IPM Sul (pontos vermelhos) de *Allobates tinae*.33

Figura 9. DAPC (A) e PCA (B–D) conduzidas com parâmetros estruturais, temporais e espectrais do canto de anúncio de 17 machos de *Allobates tinae* gravados no IPM, sendo nove machos do clado IPM Norte (pontos azuis) e oito do IMP Sul (pontos vermelhos).36

Figura 10. (A) Visão dorsal do holótipo (APL 18656) de *Allobates* sp. nov., pontos em forma de grânulos marrom-escuro distribuídos sobre o centro de todo o dorso, e região posterior do braço sem manchas, (B) em visão lateral evidenciando a faixa dorsolateral, lateral e ausência de faixa ventrolateral, (C) em visão ventral expondo o ventre translúcido claro e região da coxa, região da garganta sem melanóforos. (D–F) Fêmea, paratopótipo APL - 22229, (D) visão dorsal, note as manchas sobre as órbitas oculares, (E) visão lateral, evidenciando a faixa oblíqua lateral difusa, (E) visão ventral evidenciando o ventre quase transparente e ausência de melanóforos na região da garganta. Fotos: Jine Magnusson.42

Figura 11. (A) Visão ventral da mão do holótipo (APL 18656), com tubérculo palmar quase redondo, tenar oval. (B) Superfície ventral da mão da fêmea paratopótipo (APL 22229) de coloração marrom, causada por aglomeração de melanóforos, falanges de largura irregular no dedo III. Note que o dedo do macho é mais largo que o da fêmea. Fotos: Jeni Magnusson....43

Figura 12. (A) Pé do holótipo (APL 18656) de *Allobates* sp. nov., note a presença de um tubérculo subarticular nos dedos I e II, dois nos dedos III e V, três no dedo IV e o tubérculo subarticular basal no dedo IV mal definido, presença de quilha tarsal em forma de tubérculo. (B) Pé da fêmea paratopótipo (APL 22229) apresentando o mesmo número de tubérculos subarticulares presentes no macho e quilha tarsal. Fotos: Jeni Magnusson.44

Figura 13. Variação de cor em vida da *Allobates* sp. nov.: machos (A, B e D) com visto do padrão e coloração da superfície dorsal saco vocal, faixa dorsolateral, faixa lateral com a faixa oblíqua difusa e linha ventrolateral descontínua e iridescente esbranquiçada; (C) padrão da superfície ventral de macho à direita e fêmea à esquerda, observe o dimorfismo na coloração da garganta; (E) fêmeas com padrão de coloração dorsal, e faixas similares aos machos; (F) recém-metamórfico, com diferentes tons de marrom e faixa dorsolateral visível. Fotos: A. P. Lima.49

Figura 14. Girino de *Allobates* sp. nov., no estágio 36, (A) Vista dorsal, note o corpo ovalado, narinas amplamente espaçadas e pigmentadas, (B) vista lateral evidenciando o disco oral localizado anteroventralmente e o espiráculo localizado na porção central do corpo, (C) vista ventral, note o intestino enrolado ocultando outros órgãos. Fotos: Jeni Magnusson.54

Figura 15. Disco oral do girino de *Allobates* sp. nov., no estágio 36, (A) visão ventral, com três papilas no lábio anterior e doze papilas no lábio posterior, a fileira de dentes anteriores A2 amplamente interrompida na região medial, a mandíbula anterior em forma de U e a posterior em forma de V, (B) visão anteroventral evidenciando as papilas posteriores e fileiras de dentes posteriores P1, P2 e P3. Fotos: Jeni Magnusson.55

Figura 16. Girinos em vida de *Allobates* sp. nov., no estágio 25. Note as superfícies dorsal, lateral e anteroventral de cor marrom, as nadadeiras são translúcidas. Nesse estágio são transportados pelo macho para poças temporárias no meio da floresta. Foto: A. P. Lima.56

Figura 17. Canto de *Allobates* sp. nov. gravado na localidade-tipo, módulo de amostragem M1 da BR-319, município de Careiro Castanho, Amazonas. (A) Espectrograma e oscilograma do canto de anúncio composto por cinco notas: APL 22175, SVL = 15.2 mm, 24,8 °C. (B) Espectrograma e oscilograma do canto composto por duas notas, emitido fora do horário de atividade acústica: APL 22172, SVL = 16.4 mm, 24.8 °C.....59

Figura 18. Canto de anúncio de *Allobates* sp. nov. (A, B, E) e *A. tinae* (C, D, F) do interflúvio Purus-Madeira. (A) Canto de anúncio composto por cinco notas: APL 22175, SVL = 15.2 mm, temperatura = 24.8 °C, localidade = M1 (Careiro da Várzea, Amazonas). (B) Canto composto pelo número máximo de notas (7) registrado para a *Allobates* sp. nov.: APL 22177, SVL = 16.2 mm, temperatura = 24.7 °C, localidade = M1 (Careiro da Várzea, Amazonas). (C) Canto de anúncio composto por cinco notas: não coletado, temperatura = 25.5 °C, localidade = Jirau Esquerdo (Porto Velho, Rondônia). (D) Canto composto pelo número máximo de notas (13) registrado para a *A. tinae*: APL 21678, SVL = 15.4, temperatura = 25.9 °C, localidade = Boca do Acre (margem direita do rio Purus, Acre). Zoom das duas primeiras notas que compõe o canto de anúncio do espécime APL 22177 (E) e do espécime APL 21678 (F).....60

Figura 19. Diferença entre características temporais entre os clados. (A) Duração do canto, (B) número de notas, (C) duração das notas e (D) intervalo silencioso entre notas. Em azul clado Norte (*Allobates* sp. nov.), em vermelho clado Sul (*Allobates tinae*). Note que em todos os parâmetros o clado norte apresenta valores menores.....61

Figura 20. Comportamento reprodutivo da *Allobates* sp. nov. (A) Casal em amplexo (note que o amplexo é cefálico), (B) macho deixando o ninho após o amplexo, (C) fêmea logo após ter deixado os ovos, (D) característica dos ovos e gelatina da desova recém-posta, (E) macho transportando os girinos. Fotos: A. P. Lima.62

1 INTRODUÇÃO

A região amazônica é um grande reservatório da biodiversidade do planeta, devido a diversidade florestal que condiciona a diversidade de habitats apresentando alta riqueza de espécies de invertebrados e de vertebrados (Gaston & Williams 1996; Myers *et al.* 2000; Wilson 1992; Fouquet *et al.* 2012a, 2013; Jenkins *et al.* 2013). Dentre os vertebrados, os anuros formam um grupo muito diverso e estão amplamente distribuídos na Amazônia, com alto grau de endemismo e muitos *taxa* apresentam complexos de espécies crípticas com caracteres morfológicos semelhantes (Bossuyt & Milinkovitch 2000; Chiari *et al.* 2004; Vences *et al.* 2003; Padial & De La Riva 2009; Kaefer *et al.* 2013).

Uma das problemáticas enfrentadas na taxonomia até meados da década de 2000 era que a sistemática baseava-se em poucos caracteres morfológicos para a descrição de espécies, resultando em descrições equivocadas dentro dos complexos de espécie crípticas (Silva & Straube 1996; Dayrat 2005). Essa problemática levou a subestimativa do número de espécies de anuros na Amazônia, e medidas de conservação podem ser ineficazes, pois a conservação é baseada na distribuição das espécies (Foden *et al.* 2013; Caminer & Ron 2014).

A identificação e descrição de espécies em grupos crípticos é bastante desafiadora, pois há grande predominância do conservadorismo ao longo da evolução morfológica dos anuros (Vences *et al.* 2010; Kaefer *et al.* 2013; Rowley *et al.* 2015; Rojas *et al.* 2018). Da mesma forma que a delimitação de espécies pautada puramente em dados morfológicos com poucos caracteres pode levar a problemas para discriminar entre espécies, a utilização de dados puramente moleculares também não é adequada (Carstens *et al.* 2013; Sukumaran & Knowles 2017).

A delimitação de espécies utilizando taxonomia integrativa, que é caracterizada pela utilização da combinação dos dados morfológicos, comportamentais, bioacústicos e genéticos, é essencial, principalmente em anuros amazônicos que possuem morfologia conservadora (Dayrat 2005; Fouquet *et al.* 2007; Elmer & Cannattela 2008; Vieites *et al.* 2009; Padial *et al.* 2010; Cornils & Held 2014; Ferrão *et al.* 2017; Rojas *et al.* 2018).

O uso da taxonomia integrativa tem mostrado que espécies de anuros com ampla distribuição geográfica na verdade são grupos de espécies crípticas (Padial & De La Riva 2009; Gehara *et al.* 2014; Ferrão *et al.* 2016; 2017; Rojas *et al.* 2018).

Após as revisões taxonômicas dos anuros Dendrobatídeos realizada por (Grant *et al.* 2006, 2017) e (Santos *et al.* 2009), houve um aumento do conhecimento taxonômico desse

grupo, permitindo a descrição de novas espécies. O gênero *Allobates* foi alocado na família Aromobatidae e tornou-se quase exclusivamente cis-andino, com exceção das espécies *Allobates talamancae* (Cope 1875) e (*Allobates niputidea* Grant *et al.* 2007), que são trans-andinas (Grant *et al.* 2006, 2017).

Na família Aromobatidae o gênero *Allobates* possui o maior número de espécies descritas, sendo até o momento conhecidas 53 espécies. Na América do Sul as espécies são distribuídas em planícies da Colômbia e do Equador, região da Guiana, Guiana Francesa e drenagem da região amazônica brasileira, Bolívia, Peru, Venezuela, Martinica, e norte e oeste da América Central na Nicarágua (Grant *et al.* 2017; Frost 2018).

A partir de 2009, doze *taxa* foram nominados dentro do gênero *Allobates*, com nove espécies descritas para a Amazônia brasileira (*Allobates hodli* Simões, Lima & Farias, 2010; *Allobates paleovarzensis* Lima, Caldwell, Biavati & Montanarin, 2010; *Allobates flaviventris* Melo-Sampaio, Souza & Peloso, 2013; *Allobates grillisimilis* Simões, Sturaro, Peloso & Lima, 2013a; *Allobates magnussoni* Lima, Simões & Kaefer, 2014; *Allobates tapajos* Lima, Simões & Kaefer, 2015; *Allobates bacurau* Simões, 2016; *Allobates juami* Simões, Gagliardi-Urrutia, Rojas-Runjaic & Castroviejo-Fisher, 2018 e *Allobates tinae* Melo-Sampaio, Oliveira & Prates, 2018), as outras foram para a Venezuela (*Allobates algorei* Barrio-Amorós & Santos, 2009), Colômbia (*Allobates ignotus* Anganoy-Criollo, 2012) e Guiana (*Allobates amissibilis* Kok, Hölting & Ernst, 2013) (Frost 2018).

A maioria das espécies descritas tem distribuição restrita ou desconhecida, sendo a espécie descrita recentemente de porte pequeno, *Allobates tinae*, a que apresenta maior distribuição, ocorrendo em diferentes habitats e cruzando o rio Madeira, considerado como barreira geográfica para muitas espécies (ver Kaefer *et al.* 2013; Gravena *et al.* 2014; Simões 2016). Porém, na árvore filogenética apresentada pelos autores, há evidência de estruturação genética de quatro populações distintas (Melo-Sampaio *et al.* 2018) deixando dúvidas se seriam espécies crípticas ou realmente uma espécie com ampla distribuição e com alta flexibilidade fisiológica que permite sobreviver em ambientes bem diversos como florestas ombrófilas densas e florestas ombrófilas abertas.

No presente estudo, foi avaliado utilizando taxonomia integrativa se as populações de *Allobates tinae* da floresta ombrófila fechada [porção norte do Interflúvio Purus-Madeira (IPM)] é uma espécie críptica e distinta de *Allobates tinae* cuja localidade-tipo é em floresta ombrófila aberta. Adicionalmente, os objetivos foram separar a espécie irmã do complexo de

espécies recém-descrita de *Allobates tinae* e descrever uma possível espécie candidata com base em caracteres morfológicos, acústicos, genéticos e descrição dos girinos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Área de estudo e procedimentos de coleta

Indivíduos de *Allobates tinae* foram coletados em 12 localidades distribuídas ao longo de aproximadamente 1000 km de paisagens no interflúvio entre os rios Purus e Madeira (IPM). Dentre as localidades de coleta, sete estão distribuídas na porção norte do IPM, que é coberto predominantemente por floresta ombrófila densa (IBGE 2012). As demais localidades estão distribuídas na porção sul do IPM, cuja vegetação predominante é floresta ombrófila aberta (Fig. 1). As coletas de adultos ocorreram no período chuvoso em excursões de campo entre novembro de 2009 e março 2018. Girinos foram coletados em março de 2017.

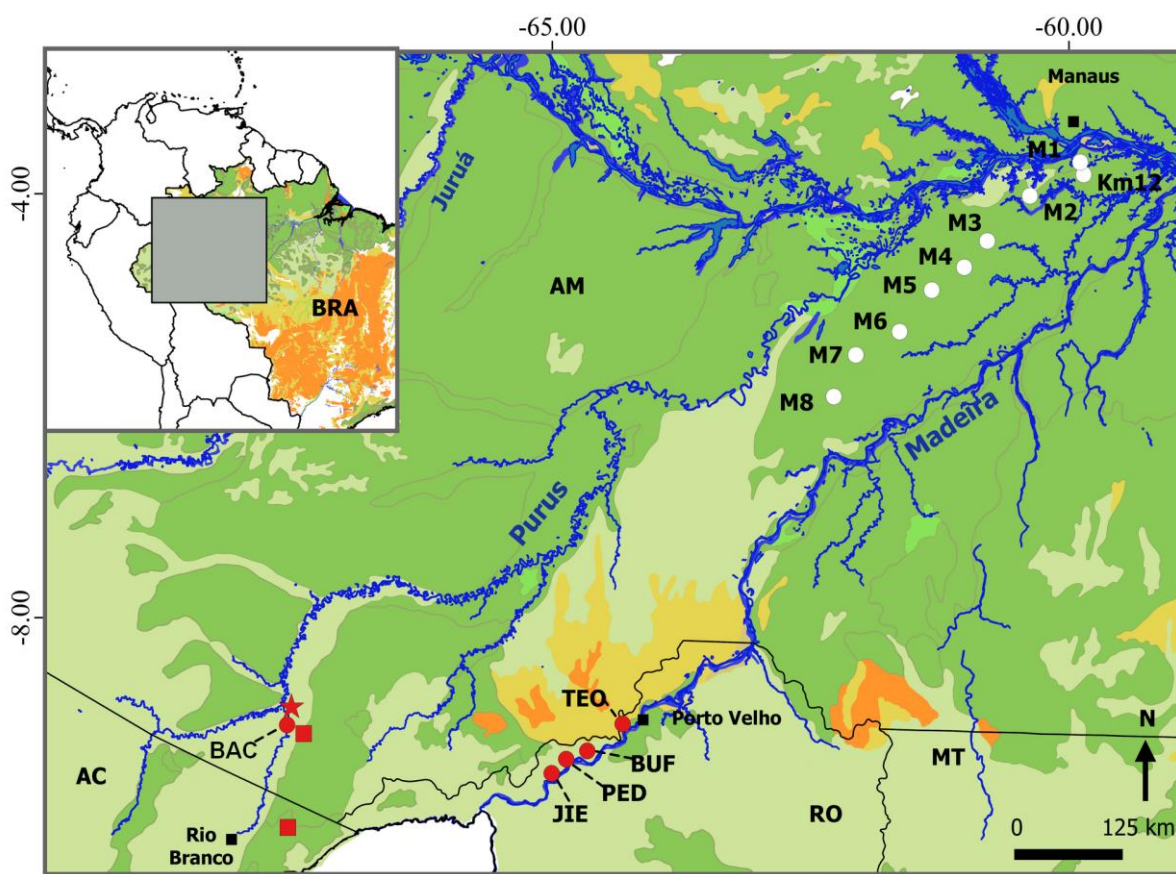


Figura 1. Distribuição geográfica dos dois clados filogenéticos de *Allobates tinae* com ocorrência nas florestas ombrófilas densas (verde escuro) e abertas (verde claro) do interflúvio Purus-Madeira. Círculos brancos: clado PMI Norte. Círculos vermelhos: clado PMI Sul. Estrela vermelha: localidade tipo de *A. tinae*. Quadrados vermelhos: distribuição dos parátipos de *A. tinae*. Abreviações: **AC**, Acre; **RO**, Rondônia; **MT**, Mato Grosso; **AM**, Amazonas; **BAC**, 20 km ao sul de Boca do Acre; **TEO**, Teotônio; **BUF**, Ilha de Búfalo; **PED**, Ilha de Pedras; **JIE**, Jirau Esquerdo; **Km12**, km 12 da estrada rodovia AM-254 que liga a BR-319 a cidade de Autazes; **M**; módulo; **N**, norte.

Adultos de *A. tinae* foram coletados no período diurno através de busca auditiva e visual. Um total de 68 machos e 11 fêmeas foram capturados manualmente com auxílio de um pote plástico e levados para o laboratório improvisado no campo, onde foram mortos por superdosagem de solução tópica de benzocaína (0,2 mg/g). Amostras de tecido muscular foram coletadas e armazenadas em álcool etílico absoluto. Posteriormente, os indivíduos foram fixados em formalina 10% e após três dias foram transferidos para o etanol 70% para armazenagem permanente. Dezesete girinos foram coletados na localidade M1 e criados em laboratório até atingirem estágios de desenvolvimento larval adequado para descrição. Girinos foram mortos por superdosagem de benzocaína líquida diluída em água e conservados em formalina 5%. Adultos e girinos serão depositados na Coleção Herpetológica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA-H) e amostras de tecido estão armazenadas no Laboratório de Ecologia de Vertebrados Terrestres do INPA, Manaus, Brasil.

Cantos de anúncio de 17 machos foram gravados em sete localidades distribuídas ao longo do IPM. Destas, duas gravações foram feitas no km 12 da AM-254 e sete gravações na localidade M1, ambas na porção norte do IPM (Fig. 1). Oito gravações foram realizadas na porção sul do IPM, sendo três nas proximidades da localidade tipo (Boca do Acre, Amazonas), duas em Jirau Esquerdo, uma em Búfalo, outra em Teotônio e por fim uma gravação em Pedras (Porto Velho, Rondônia). Cantos foram gravados com microfone direcional ME 66 (Sennheiser: Wedemark, Alemanha) conectado a um gravador digital PMD 660 (Marantz: Kanagawa, Japão). O microfone ficou situado a aproximadamente 1 m de cada macho gravado. Gravações foram realizadas com taxa de amostragem de 44.1 kHz. A temperatura do ar no instante da gravação foi medida com termômetro digital e variou de 24,3 a 28,5 °C, ($25,5 \pm 0,92$ °C).

2.2 Morfologia

O sexo dos indivíduos foi atribuído através da presença ou ausência de caracteres sexuais, tais como saco vocal e coloração ventral. Medidas morfométricas maiores que 10 mm foram aferidas com paquímetro digital com precisão de 0.1 mm, enquanto medidas menores que 10 mm foram aferidas com auxílio de um microscópio estereoscópico. Vinte e três medidas morfométricas foram aferidas em cada indivíduo: 1) comprimento rostro-cloacal (SVL); 2) comprimento da cabeça, da articulação da maxila até a ponta do focinho (HL); 3) distância interorbital, medida entre os limites internos das pálpebras superiores (IO); 4)

largura da cabeça ao nível da articulação da maxila (HW); 5) comprimento do focinho, do canto anterior do olho até a ponta do focinho (SL); 6) distância do olho à narina, do canto anterior do olho ao centro da narina (END); 7) distância entre narinas, medido entre o limite internos entre as narinas (IN); 8) comprimento do olho, do canto anterior ao posterior (EL); 9) diâmetro do tímpano, medido horizontalmente no eixo crânio-cauda (TYM); 10) comprimento do antebraço, da extremidade proximal do tubérculo palmar até a borda exterior do cotovelo flexionado (FAL); 11) comprimento do braço, da sua inserção no tronco até a borda exterior do cotovelo flexionado (UAL); 12) comprimento do fêmur (coxa) à partir do centro da abertura anal até a articulação tíbio-femoral, com os membros semi-flexionados (LL); 13) comprimento da tíbia, da borda externa do joelho flexionado até o calcanhar (TL); 14) comprimento do pé, da extremidade proximal do tubérculo metatarsal até a ponta do dedo IV (FL); 15) Comprimento da mão da borda proximal do tubérculo palmar até a ponta do dedo I (HANDI); 16) comprimento da mão da borda proximal do tubérculo palmar até a ponta do dedo II (HANDII); 17) comprimento da mão da borda proximal do tubérculo palmar até a ponta do dedo III (HANDIII); 18) comprimento da mão da borda proximal do tubérculo palmar até a ponta do dedo IV (HANDIV); 19); largura do disco no dedo III da mão (WFD); 20) diâmetro do tubérculo palmar (DPT); 21) largura do tubérculo tenar (WTT); 22) largura do dedo III da mão (WPF); 23) largura do disco no dedo IV do pé (WTD) (Fig. 2) Terminologias, caracteres diagnósticos e definições de medidas seguiram Caldwell & Lima (2003), Grant *et al.* (2006) e Lima *et al.* (2007).

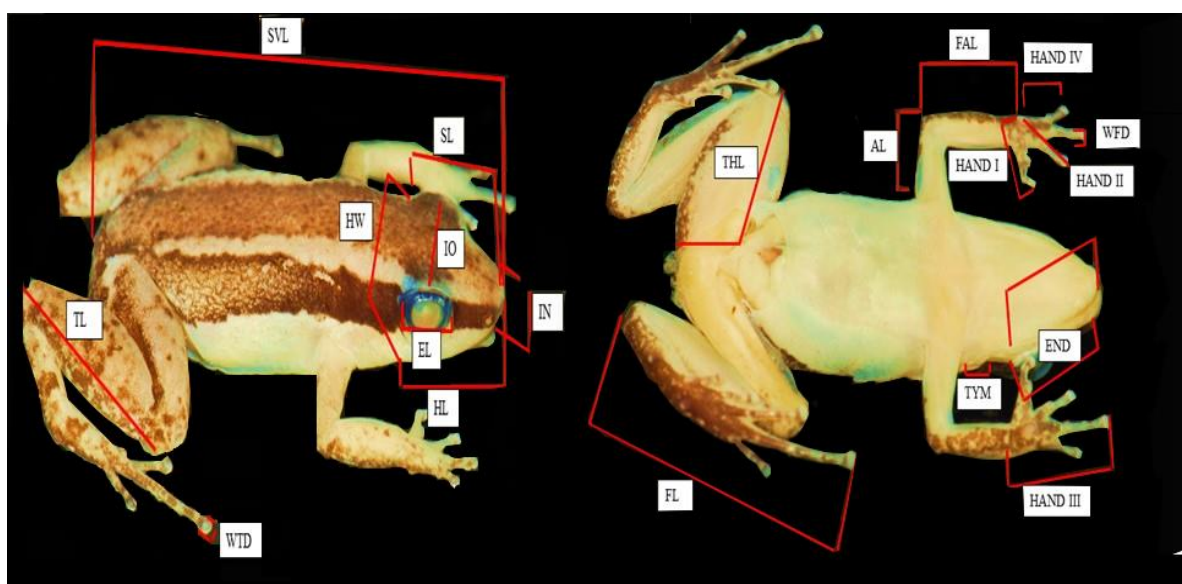


Figura 2. Esquema das medidas morfométricas realizada nos adultos dos dois clados de *Allobates tinae* do IPM. Acrônimos detalhado acima. Fotos: A. P. Lima.

Dezessete medidas morfométricas foram tomadas dos girinos: 1) comprimento total, medido da ponta da cauda até a ponta de focinho (TL); 2) comprimento do corpo, medido da ponta do focinho à inserção da cauda (BL); 3) comprimento da cauda, medido da ponta da cauda até sua inserção no corpo (TAL); 4) largura do corpo no nível do espiráculo (BW); 5) altura do corpo no nível do espiráculo (BH); 6) largura da cabeça no nível dos olhos (HWLE); 7) largura máxima do músculo da cauda (TMW); 8) altura máxima da cauda (MTH); 9) altura máxima do músculo da cauda (TMH); 10) distância interorbital (IOD); 11) distância entre narinas (IND); 12) distância olho–narina (END); 13) distância narina–focinho (NSD); 14) diâmetro do olho (ED); 15) comprimento do tubo anal (VTL); 16) comprimento do espiráculo (STL); 17) largura do disco oral (ODW) (Fig. 02) Foram determinados os estágios de desenvolvimento dos girinos de acordo com Gosner (1980). Terminologia, caracteres diagnósticos e medidas seguem Altig & McDiarmid (1999) e Sanchez *et al.* (2013).

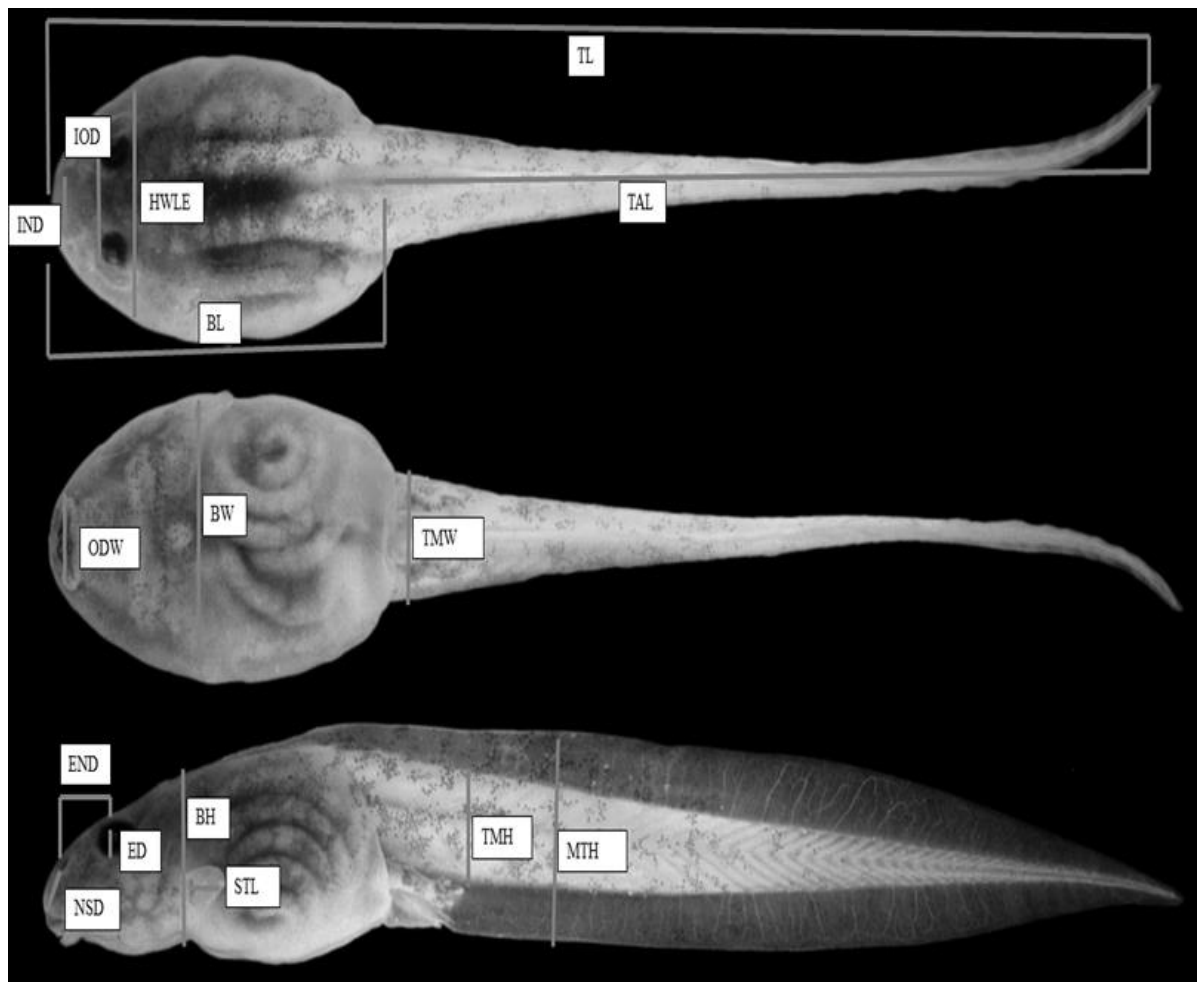


Figura 3 Esquema das medidas aferidas nos girinos. Acrônimos detalhados acima. Fotos: A. P. Lima.

2.3 Bioacústica

O canto foi caracterizado como o conjunto de notas emitidas intercaladas por curtos intervalos silenciosos (Fig. 4 e 5). Parâmetros espectrais foram medidos através de gráficos de espectro de energia gerados com resolução de 82 Hz de frequência e 2048 pontos, janela do tipo Blackman. Para evitar sobreposição com o ruído de fundo, frequências foram medidas 20 dB abaixo da frequência de pico. Parâmetros foram aferidos com o uso do software RAVEN 1.5 (Bioacoustics Research Program 2014).

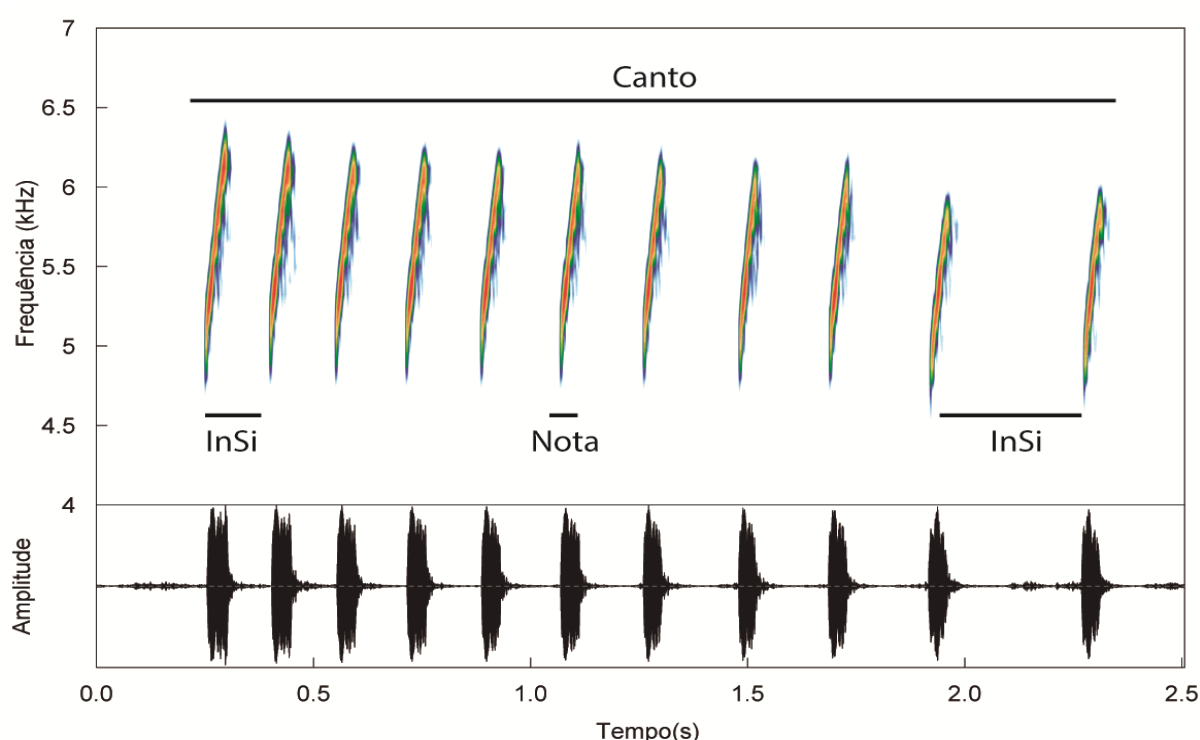


Figura 4. Representação visual de três parâmetros utilizados na caracterização do canto de anúncio de *Allobates* utilizados neste estudo. Canto: grupo de notas intercaladas por curtos intervalos silenciosos. Nota: principal subunidade que compõe o canto e no caso de *A. tinae*, não subdividida em pulsos. Intervalo silencioso entre notas: intervalo entre duas notas que compõe o mesmo canto. Abreviação: **InSi**, intervalo silencioso emitido entre notas.

Parâmetros bioacústicos foram aferidos em cinco cantos de anúncio de cada um dos 17 machos gravados neste estudo. Em cada canto analisado, aferimos os seguintes parâmetros: 1) duração do canto (DC); 2) número de notas (NN); 3) duração da primeira nota (DUR_N1); 4) duração da nota central (DUR_N2); 5) duração da última nota (DUR_N3); 6) duração do primeiro intervalo silencioso (INT_1); 7) duração do intervalo silencioso após a nota central (INT_2); 8) duração do último intervalo silencioso (INT_3); 9) frequência de pico da primeira

nota (FP_N1); 10) frequência de pico da nota central (FP_N2); 11) frequência de pico da última nota (FP_N3); 12) frequência baixa da primeira nota (FB_N1); 13) frequência baixa da nota central (FB_N2); 14) frequência baixa da última nota (FB_N3); 15) frequência alta da primeira nota (FA_N1); 16) frequência alta da nota central (FA_N2); 17) frequência alta da última nota (FA_N3).

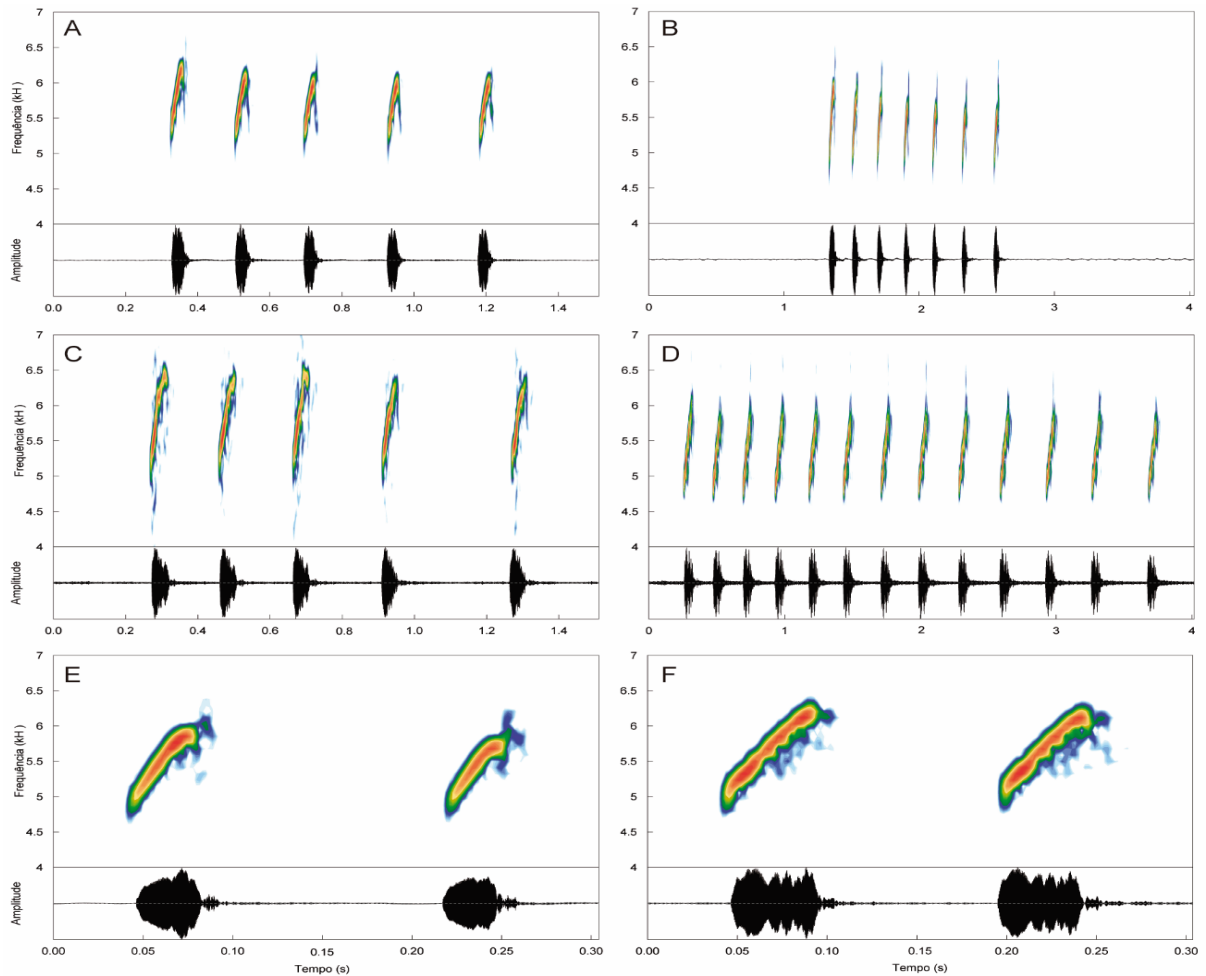


Figura 5. Canto de anúncio de *Allobates* sp. nov. (A, B, E) e *A. tinae* (C, D, F) do interflúvio Purus-Madeira. (A) Canto de anúncio composto por cinco notas: APL 22175, SVL = 15.2 mm, temperatura = 24.8 °C, localidade = M1 (Careiro da Várzea, Amazonas). (B) Canto composto pelo número máximo de notas (7) registrado para *Allobates* sp. nov.: APL 22177, SVL = 16.2 mm, temperatura = 24.7 °C, localidade = M1 (Careiro da Várzea, Amazonas). (C) Canto de anúncio composto por cinco notas: não coletado, temperatura = 25.5 °C, localidade = Jirau Esquerdo (Porto Velho, Rondônia). (D) Canto composto pelo número máximo de notas (13) registrado para a *A. tinae*: APL 21678, SVL = 15.4, temperatura = 25.9 °C, localidade = Boca do Acre (margem direita do rio Purus, Acre). Zoom das duas primeiras notas que compõe o canto de anúncio do espécime APL 22177 (E) e do espécime APL 21678 (F).

2.4 História natural

Para tomada de dados de história natural, machos e fêmeas foram seguidos e observados do início da manhã até o final da tarde em fevereiro de 2002 no Km 12 da Estrada de Autazes e em abril de 2017 na localidade M1, porção norte do IPM. Foi observado durante este período as características da secreção gelatinosas que cobrem os ovos, coloração dos ovos, local de ovoposição, tipo de amplexo, horários e locais preferenciais para a atividade de vocalização. Para testar se os machos são territoriais foi usado *play-back* com gravação da vocalização de outro macho.

2.5 Sequenciamento e análises filogenéticas

DNA total foi extraído a partir de amostras de tecido muscular de seis indivíduos de *Allobates tinae* da porção norte do Interflúvio Purus-Madeira (IPM), com quatro indivíduos do km 12 da estrada de Autazes (AM-254) e dois indivíduos do módulo de amostragem M1 da BR-319. Adicionalmente, foi extraído DNA total de três indivíduos de *Allobates tinae* coletados na porção sul do mesmo interflúvio, na margem esquerda do alto rio Madeira (20–50 km de Porto Velho, Rondônia). O DNA foi extraído através do kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega, Madison-WI, E.U.A.) e seguindo as recomendações do fabricante. Fragmento do gene mitocondrial 16S rRNA foi amplificado por meio de reação de cadeia polimerase (RCP) utilizando os primers universais 16sar (5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3') e 16sbr (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3') descritos por Palumbi (1996). Reações de RCP foram realizadas seguindo o protocolo de ciclagem de Maia *et al.* (2017). Reações de sequenciamento foram realizadas através do kit Big Dye (Applied Biosystems) e seguindo as recomendações do fabricante. Os produtos de sequenciamento foram precipitados utilizando EDTA/etanol e analisados no sequenciador ABI 3130xl (Applied Biosystems). Todos os procedimentos laboratoriais foram conduzidos no Laboratório Temático de Biologia Molecular (LTBM) do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA). Sequências foram checadas e editadas manualmente através do Geneious 5.3.4 (Kearse *et al.* 2012).

Além das sequências obtidas de indivíduos referidos no presente estudo, nosso banco de dados foi composto por sequências de 80 indivíduos de *Allobates* representando 33 espécies. Adicionalmente, foram utilizadas sequências de quatro espécies representando

gêneros correlatos e utilizadas como grupo externo (*Anomaloglossus stepheni*, *Aromobates nocturnus*, *Mannophryne collaris*, *Rheobates palmatus*). Para fins de reconstrução filogenética, foram utilizadas sequências de quatro genes mitocondriais (12S, 16S, *cytochrome oxidase I*, *cytochrome b*) e seis genes nucleares [28S *ribosomal RNA* (28S), *histone H3* (HH3), *recombination activating gene 1* (RAG1), *rhodopsin* (RHO), *seventh in absentia* (SIA), e *tyrosinase* (TYR)]. A amostragem de táxons e de genes no presente estudo seguiu (Melo-Sampaio *et al.* 2018).

Para cada gene amostrado, sequências foram alinhadas utilizando o algoritmo CLUSTAL W (Thompson *et al.* 1994) como implementado no Bioedit 7.2.5 (Hall 1999) e posteriormente checados manualmente. Os alinhamentos resultantes foram então unificados no programa Mesquite 3.04 (Maddison & Maddison 2015), resultando no banco de dados final composto por 5929 pares de bases e 91 táxons. Táxons, vouchers e número de acesso ao GenBank das sequências utilizadas encontram-se no Apêndice.

Modelos de evolução nucleotídica e esquemas de partições foram aferidos no PartitionFinder 2.1.1 (Lanfear *et al.* 2016) através de critério de inferência Bayesiana e do algoritmo PhyML (Guindon *et al.* 2010). Modelos de evolução e esquemas de partição propostos encontram-se na Tabela 1. Relação filogenética foi recuperada através de inferência Bayesiana por meio do MrBayes 3.2.6 (Ronquist *et al.* 2012) como implementado no servidor online CIPRES (Miller *et al.* 2010). Foi realizado quatro corridas independentes compostas por quatro cadeias Markov de 10 milhões de gerações cada, amostradas a cada 1000 passos. A estacionaridade dos parâmetros analíticos e convergência entre corridas foram checadas no Tracer 1.7 (Rambaut *et al.* 2018) e assumidos quando valores de ESS foram maiores que 200. A árvore filogenética foi sumarizada no MrBayes após descarte de 25% das árvores armazenadas.

Algoritmos barcoding vem sendo utilizados em estudos de diversidade críptica de anuros no Neotrópico (Guarnizo *et al.* 2016, Ferrão *et al.* 2016, 2018). Neste estudo, aplicamos a implementação Bayesiana do algoritmo delimitador de espécies *Poisson Tree Process* (bPTP) (Zhang *et al.* 2013). Foi utilizado o bPTP por ser um modelo que foca no processo evolutivo de especiação, considerando o processo a partir do qual as linhagens evolutivas surgiram e identificando as linhagens compatíveis com o processo de coalescência, portanto, implementamos para investigar se os clados de *Allobates tinae* recuperados por nossa reconstrução filogenética representam espécies distintas. O bPTP foi conduzido com 400.000 gerações MCMC, sendo amostradas a cada 100 gerações e utilizando burning de 20%

através da implementação web do bPTP (<https://species.h-its.org/>). Foi aferida a distância genética não corrigida e distância Kimura-2-Parâmetros (Kimura 1980) entre clados recuperados associados a *Allobates tinae* através do MEGA 6.0. (Tamura *et al.* 2013). Distâncias genéticas foram aferidas utilizando o alinhamento de sequências do gene mitocondrial 16S.

Tabela 1. Partições e modelos evolutivos propostos por critério de inferência Bayesiana através do algoritmo PhyML como implementado no PartitionFinder. Números após o nome dos genes denotam a posição do códon. Acrônimos dos genes são descritos no texto. PT = partições.

PT	Modelo	Genes	Posição dos pares de bases
1	GTR+I+G	12S; 16S	1-946; 5238-5929
2	JC+I	28S; SIA-1	947-1741; 4264-4660
3	GTR+I+G	COI-1; CYTB-1	1742-2339; 2340-3183
4	SYM+I+G	COI-2; CYTB-2; CYTB-3	1743-2339; 2341-3183; 2342-3183
5	F81	COI-3; RHO-3	1744-2339; 3949-4263
6	HKY+G	HH3-1; RHO-1; TYR-3	3184-3511; 3947-4263; 4663-5237
7	JC	HH3-2; HH3-3; SIA-2	3185-3511; 3186-3511; 4265-4660
8	K80+G	RAG1-1; SIA-3	3512-3946; 4266-4660
9	HKY+I	RAG1-2; RAG1-3; RHO-2; TYR-1; TYR-2	3513-3946; 3514-3946; 3948-4263; 4661-5237; 4662-5237

2.6 Análises morfológicas e bioacústicas

Foram utilizados dois métodos distintos para investigar se machos dos dois clados de *Allobates tinae* que ocorrem no IPM podem ser diferenciados através de dados morfométricos e bioacústicos: (1) RandomForest e (2) Análise Discriminante de Componentes Principais (DAPC). Adicionalmente, foram utilizadas Análises de Componentes Principais (PCA) associadas a Análises de Variância Multivariada (MANOVA) para investigar se o espaço morfométrico multidimensional ocupado por machos de ambos os clados de *A. tinae* são diferentes entre si.

RandomForest é um algoritmo de aprendizagem supervisionada que constrói árvores de classificação a partir da subamostragem randômica dos dados e posteriormente de seus respectivos classificadores (Breiman 1996). RandomForest foi conduzido separadamente para dados morfométricos e bioacústicos. Para conduzir o RandomForest morfológico, foram

utilizadas 23 medidas morfométricas (SVL, HL, HW, SL, END, IN, EL, IO, TYM, FAL, UAL, HANDI, HANDII, HANDIII, HANDIV, WFD, TL, FL, LL, DPT, WTT, WTD, WFP) proveniente de 36 machos adultos de *A. tinae* do clado IPM Norte e 32 machos do clado IPM Sul. RandomForest bioacústico foi conduzido com 16 medidas (CB, DUR_Total, DUR_N1, DUR_N2, DUR_N3, interN1, interN2, FP_N1, FP_N2, FP_N3, FB_N1, FB_N2, FB_N3, FA_N1, FA_N2 e FA_N3) provenientes do canto de anúncio de 15 machos de *A. tinae*, sendo 9 machos do clado IPM Norte e 6 machos do clado IPM Sul. Cada RandomForest foi conduzido através da construção de 1000 árvores de classificação.

DAPC é um método eficiente de classificação de grupos (ex. morfológicos e bioacústicos) a partir de variáveis sintéticas (eixos de PCA). Estas variáveis são sintetizadas a partir da combinação de variáveis originais (ex. medidas morfométricas e bioacústicas) com maior variação entre e dentro de grupos pré-definidos (Jombart *et al.* 2010), que neste estudo são os clados distintos de *A. tinae* com ocorrência no IPM. Com base nesta variação, a DAPC calcula a probabilidade de cada espécime pertencer a um referido grupo. A DAPC foi conduzida separadamente para dados morfométricos e bioacústicos e foi conduzida com o mesmo banco de dados utilizados pelo algoritmo RandomForest.

Foi investigado se indivíduos de *A. tinae* dos clados filogenéticos que ocorrem no IPM ocupam diferentes espaços morfométricos e bioacústicos através de Análise de Componentes Principais (PCA). O número de Componentes Principais (PC) a serem retidos para visualização gráfica e para análises posteriores foi aferido por meio do modelo *Broken-Stick*, que reteve os dois primeiros PCs. Para aferir a existência de diferença estatística no espaço morfométrico e bioacústico ocupado por machos dos clados de *A. tinae*, foram conduzidas Análises de Variância Multivariada (AMOVA) utilizando os dois primeiros PCs da PCA como variáveis dependentes e clados filogenéticos como variável independente. A PCA morfométrica foi conduzida com o SVL e 22 razões morfométricas, sendo: HL/SVL; HW/SVL; SL/SVL; END/SVL; IN/SVL; EL/SVL; IO/SVL; TYM/SVL; FAL/SVL; UAL/SVL; HANDI/SVL; HANDII/SVL; HANDIII/SVL; HANDIV/SVL; WFD/SVL; TL/SVL; FL/SVL; LL/SVL; DPT/SVL; WTT/SVL; WTD/SVL; WFP/SVL. A PCA com dados bioacústicos foi conduzida com o mesmo banco de dados utilizado pelo RandomForest e pela DAPC.

As análises morfométricas e bioacústicas foram conduzidas na plataforma R (R Core Team 2017). O algoritmo RandomForest foi executado através do pacote *randomForest* 4.6-14 (Liaw & Wiener 2001) e a DAPC foi executada através do pacote *adeigenet* 2.1.0 (Jombart

2008; Jombart & Ahmed 2011). PCA e MANOVA foram executadas através do pacote *stats* 3.4.1 (R Core Team 2017). A PCA foi implementada através da função *prcomp* utilizando o comando “*scale = TRUE*”.

2.7 Comparações taxonômicas

A descrição original do canto de anúncio de *Allobates tinae* (Melo-Sampaio *et al.* 2018) apresenta número reduzido de parâmetros temporais e espectrais quando comparado com os mensurados no presente estudo. Para viabilizar a inclusão das informações referentes ao canto de anúncio de *A. tinae* da localidade-tipo nas comparações estatísticas com o canto da *Allobates* sp. nov., foram fundidos os parâmetros mensurados por notas afim de obter médias globais para os seguintes parâmetros: (1) duração das notas (composto por DUR_N1, DUR_N2 e DUR_N3); (2) duração do intervalo silencioso (composto por inter_1, inter2 e inter3); (3) frequência de pico (composto por FP_N1, FP_N2 e FP_N3). Foi utilizado teste t para investigar a existência de diferença estatística no número de notas emitidas por canto, duração do canto, duração das notas, duração do intervalo silencioso entre notas, e da frequência de pico. Comparações foram feitas entre as médias dos parâmetros bioacústicos de nove machos gravados da *Allobates* sp. nov. e 10 machos de *A. tinae* (incluindo o holótipo e um macho não capturado da localidade tipo). Testes foram conduzidos na plataforma R (R Core Team 2017).

3 RESULTADOS

3.1 Análises filogenéticas

A análise filogenética baseada em 10 genes recuperou *Allobates* como monofilético (Fig. 6). O clado composto por *Allobates olfersioides* da Mata Atlântica foi recuperado como irmão de *A. undulatus* da Venezuela e demais espécies de *Allobates*. Apesar do suporte alto para relações filogenéticas entre alguns grupos de espécies como: *A. flaviventris* + *A. magnussoni*; *A. masniger* + *A. nidicola*; *A. tapajos* + *A. gasconi*, de maneira geral o suporte para as relações filogenéticas entre espécies foi baixo. Probabilidades posteriores > 0.90 são mostradas próximas aos nós (< 0.90 omitidas). Três grandes clados com alta probabilidade posterior foram recuperados para *Allobates gasconi* e *A. trilineatus* (Fig. 6; 7).

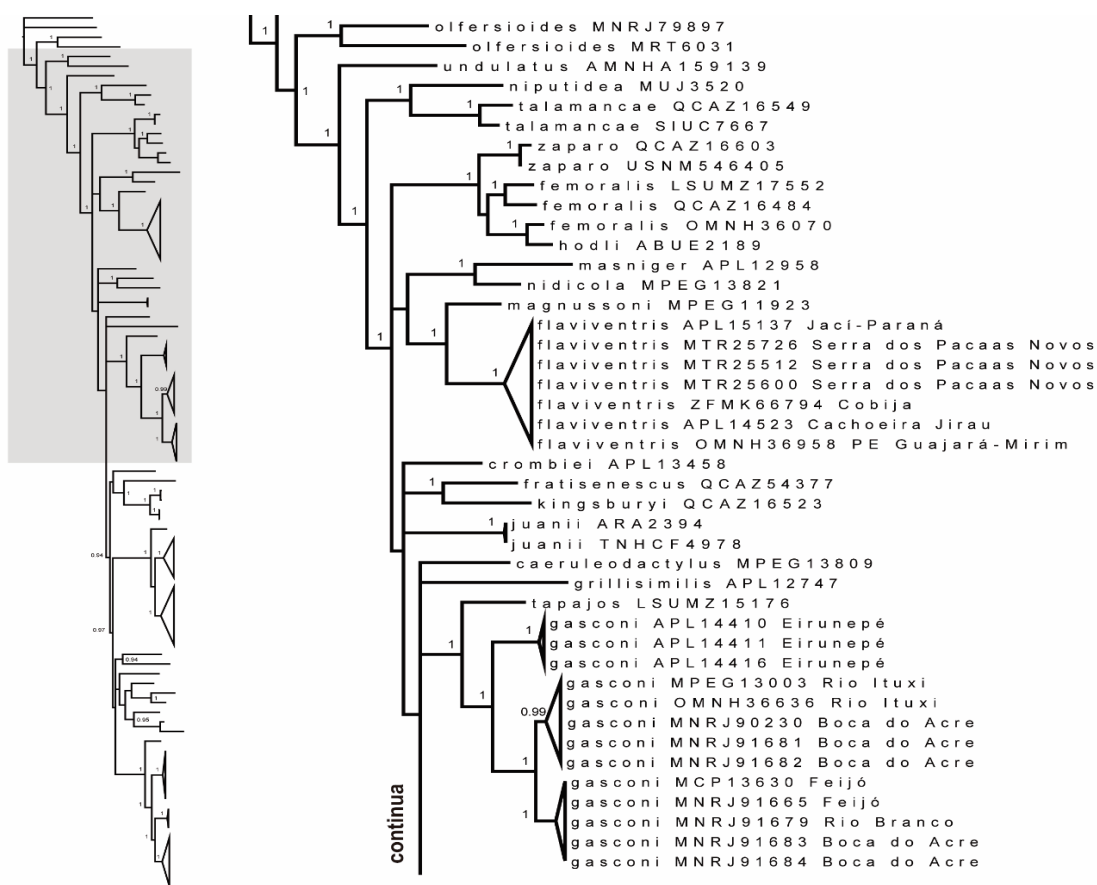


Figura 6. Árvore filogenética de *Allobates* reconstruída por inferência Bayesiana e através de quatro genes mitocondriais (12S, 16S, COI, CYTB) e seis genes nucleares (28S, HH3, RAG1, RHO, SAI, TYR). Retângulo cinza no filograma esquerdo evidencia a porção da árvore filogenética mostrada no lado direito.

Com quatro clados fortemente suportados, sem probabilidade posterior, *Allobates tinae* foi a espécie com maior estruturação dentre as inclusas neste estudo (Fig. 7). Dentre os clados de *A. tinae*, dois destes ocorrem no IPM. O clado distribuído no sul do interflúvio (IPM Sul) é composto por indivíduos oriundos da margem esquerda do alto rio Madeira, além do holótipo e um paratopótipo de Boca do Acre (margem direita do rio Purus) e um indivíduo do rio Ituxí (afluente da margem direita do rio Purus). O clado com distribuição na porção norte do interflúvio (IPM Norte) é composto por indivíduos coletados no km 12 da AM-254 que liga Autazes à BR-319 e por indivíduos oriundos do módulo permanente de amostragem M1 da BR-319. O clado IPM Norte foi recuperado como monofileticamente recíproco em relação ao clado composto por Tefé + IPM Sul (Fig. 7).

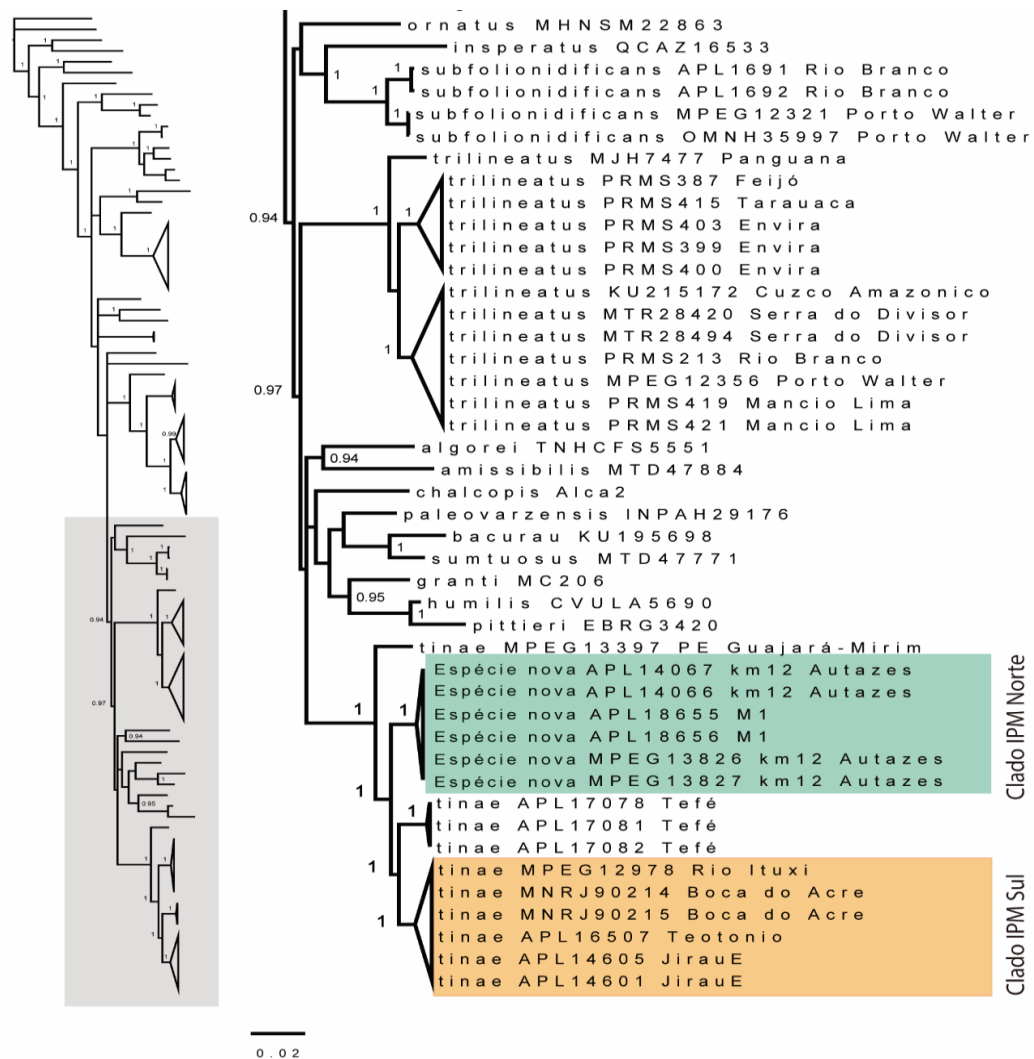


Figura 7. Árvore filogenética (II) de *Allobates* reconstruída por inferência Bayesiana e através de quatro genes mitocondriais (12S, 16S, COI, CYTB) e seis genes nucleares (28S, HH3, RAG1, RHO, SAI, TYR). Probabilidades posteriores (PP) > 0.9.

A implementação Bayesiana do algoritmo PTP delimitou cada um dos quatro clados de *A. tinae* como espécies distintas. Distâncias genéticas entre clados de *A. tinae* foram moderadamente altas para o gene 16S rRNA (Tabela 2). A distância genética K2P entre o clado IPM Sul e Tefé foi de 4.1%, enquanto a distância entre clado IPM Sul e IPM Norte foi de 3.7%. O clado com maiores valores de diferenciação K2P foi Guajará-Mirim, com valores K2P variando entre 4.7–5.2%. Veja a Tabela 2 para os valores de distâncias genéticas *p*.

Tabela 2. Distâncias genéticas K2P (diagonal esquerda inferior) e distância não corrigida *p* (diagonal direita superior) entre clados de *Allobates tinae* identificados como espécies distintas pelo algoritmo bPTP. A linhagem 2 corresponde a *A. tinae* descrita por (Melo-Sampaio *et al.* 2018). IPM = Interflúvio Purus-Madeira.

Linhagens		1	2	3	4
1	<i>A. tinae</i> clado Guajará-Mirim		0.045	0.050	0.046
2	<i>A. tinae</i> clado IPM Sul	0.047		0.040	0.035
3	<i>A. tinae</i> clado Tefé	0.052	0.041		0.035
4	<i>A. tinae</i> clado IPM Norte	0.048	0.037	0.037	

3.2 Análises morfológicas

O modelo RandomForest conduzido com dados morfométricos tomados de 36 machos do clado IPM Norte e 32 machos do IPM Sul apresentou alta performance na atribuição de indivíduos a seus respectivos clados, com apenas 10.3% de taxas de erro global. O modelo classificou corretamente 33 indivíduos ao clado IPM Norte e 28 indivíduos ao clado IPM Sul. Três indivíduos do clado IPM Norte e quatro indivíduos do clado IPM Sul foram classificados erroneamente em outro clado, representando uma taxa de erro de 8 e 12%, respectivamente. As medidas morfométricas de maior importância na classificação morfológica de acordo com o modelo RandomForest foram, em ordem de importância: WFD, WTD, SL, HANDI e WFP.

A DAPC conduzida com medidas morfométricas de machos do clado IPM Norte e IPM Sul resultou em altas probabilidades de acerto na designação dos indivíduos a seus respectivos clados (Fig. 8: A). Todos os indivíduos do clado IPM Norte foram atribuídos corretamente ao clado de origem, com exceção de um espécime do M2. As probabilidades de acerto para indivíduos desse clado foram altas 0.95 ± 0.15 % (0.28–1.00). De modo similar, todos os indivíduos do clado IPM Sul foram corretamente atribuídos a seu respectivo clado,

com altas probabilidades de acerto (0.98 ± 0.06) com apenas dois indivíduos apresentando probabilidade de acerto moderada (75%). As medidas morfométricas com valores mais altos de contribuição na classificação pela DAPC foram: WFD, WTD, IN e WTT.

O modelo de *broken stick* reteve os três primeiros PCs resultantes da PCA conduzida com dados morfométricos, que explicaram juntos 58.8% da variação dos dados. O espaço morfométrico multidimensional de machos do clado IPM Norte se sobrepôs visualmente ao espaço ocupado por machos do clado IPM Sul nos dois primeiros PCs (Fig. 8: B). Entretanto, o espaço morfométrico multidimensional ocupado pelos clados IPM Sul e IPM Norte estão pouco sobrepostos quando representados graficamente pelo PC1/PC3 e PC2/PC3 (Fig. 6: C–D). A MANOVA conduzida com os três primeiros PCs demonstrou que os dois clados de *A. tinae* que ocorrem no IPM ocupam espaços morfométricos distintos (Pillai = 0.58; GL = 64; $p < 0.0001$). As cinco variáveis morfométricas que mais contribuíram com a variação capturada pelo PC1 foram: HW, HANDI, TL, HANDIII e HANDII. Enquanto no PC2, as variáveis de maior contribuição foram: HANDIV, FAL, TYM, LL e EL; e no PC3 foram: WFD, WPF, SL e WTT. Veja a Tabela 3 para valores de contribuição das demais variáveis morfométricas.

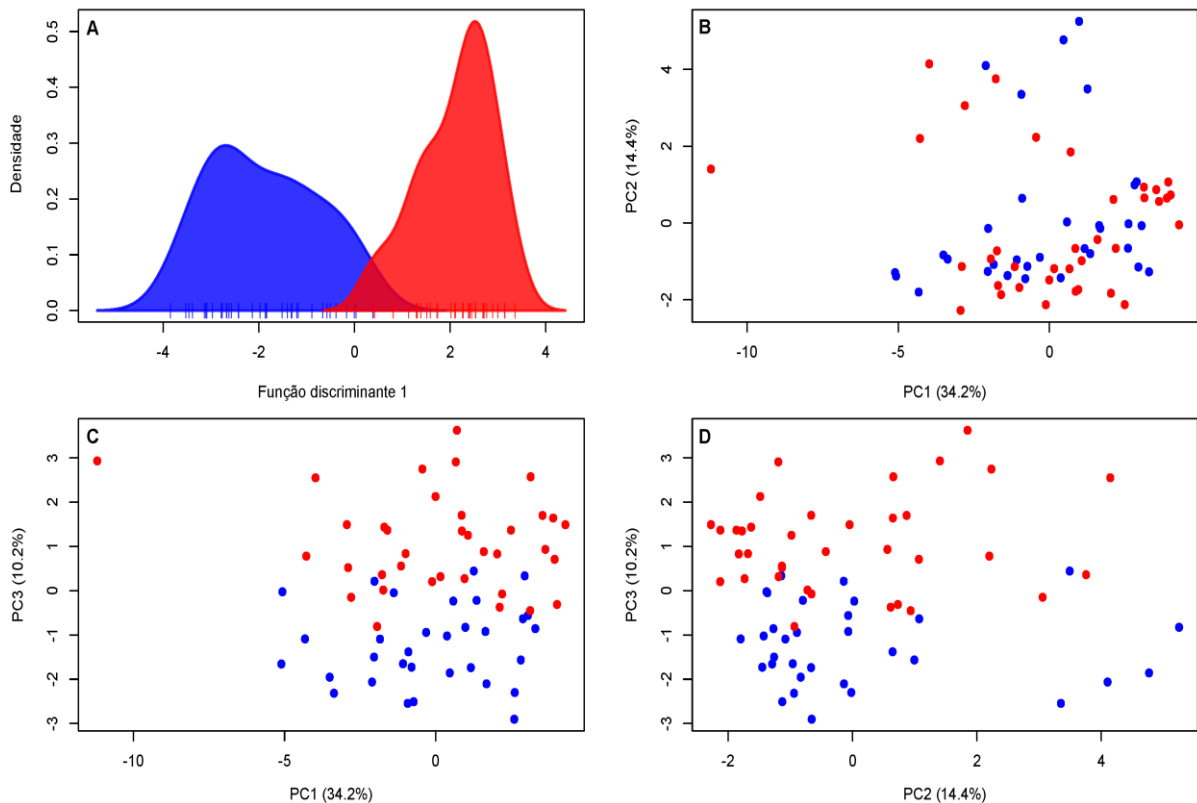


Figura 8. DAPC (A) e PCA (B–D) conduzidas com SVL e 22 razões morfométricas de 36 machos do clado IPM Norte (pontos azuis) e 32 machos do IPM Sul (pontos vermelhos) de *Allobates tinae*.

Tabela 3. Contribuição do SVL e 22 razões morfométricas de *Allobates tinae* nos três primeiros Componentes Principais (PC) gerados pela Análise de Componentes Principais. Veja definições dos acrônimos na seção Materiais e Métodos. Valores em negrito denotam as cinco variáveis que mais contribuíram com a formação dos PCs 1–3.

Variáveis	PC1	PC2	PC3	Variáveis	PC1	PC2	PC3
SVL	0.2504	0.0780	-0.2769	HANDII	-0.2629	0.0884	-0.0102
HL	-0.2235	0.2553	0.1248	HANDIII	-0.2670	0.1239	0.2200
HW	-0.2903	-0.0254	0.0083	HANDIV	0.0233	-0.4977	-0.0430
SL	-0.1832	0.1595	-0.2926	WFD	-0.1828	-0.0193	-0.4026
END	-0.1343	0.2407	-0.1401	TL	-0.2695	-0.1791	0.1825
INN	-0.2113	-0.1980	0.0830	FL	-0.2556	-0.1960	0.0611
EL	-0.2287	0.2691	0.1360	LL	-0.2355	-0.2713	-0.0249
IO	-0.2452	-0.0934	-0.0500	DPT	-0.1508	-0.1883	-0.1619
TYM	-0.1172	-0.3304	0.0716	WTT	-0.0457	-0.0364	-0.2821
FAL	-0.1390	0.3442	0.2323	WTD	-0.1494	0.0723	-0.4373
UAL	-0.2556	0.1073	0.0889	WFP	-0.0835	0.1495	-0.3793
HANDI	-0.2723	-0.0748	-0.1290				

3.3 Análises bioacústicas

O modelo RandomForest conduzido com parâmetros do canto de anúncio de machos de *A. tinae* com distribuição no IPM classificou com precisão absoluta todos os indivíduos a seus respectivos clados, sendo nove indivíduos do clado IPM Norte e oito indivíduos do clado IPM Sul (veja a tabela 4 com a sumarização desses parâmetros). Os parâmetros temporais foram os mais importantes na classificação correta dos indivíduos, sendo DUR_N1, DUR_N2, DC e DUR_N3 e as variáveis que mais contribuíram para a correta classificação.

Assim como o modelo RandomForest, a DAPC performada com parâmetros temporais e espectrais do canto de anúncio de machos dos clados IPM Norte e IPM Sul (Fig. 9: A) atribuiu os indivíduos a cada um de seus respectivos clados com probabilidade de acerto de 100%. Entretanto, as variáveis que mais contribuíram com a classificação resultante da DAPC foram os parâmetros espectrais, em ordem de importância: NN, INT_2, FP_N1, INT_1 e FA_N1.

Tabela 4. Sumário dos parâmetros temporais e espectrais do canto de anúncio de representantes dos dois clados de *Allobates tinae* com ocorrência no IPM: clado IPM Norte do módulo M1 da BR-319 (Careiro Castanho, Amazonas) e do km12 da AM-254 (Autazes, Amazonas); clado IPM Sul da margem esquerda do alto rio Madeira (Porto Velho, Rondônia) e margem direita do rio Purus (Boca do Acre, Acre). Valores correspondem a média e desvio padrão, seguidos pela variação (entre parênteses). Acrônimos estão detalhados em Materiais e Métodos.

	IPM Norte	IPM Sul
Machos gravados	9	8
Cantos analisados	45	40
Nº de Notas analisadas	135	120
Temperatura (°C)	25.4 ± 1.2 (24.3–28.5)	25.7 ± 0.4 (25.0–26.0)
Notas por canto	4.8 ± 1.4 (3–7)	8.02 ± 2.24 (5.00–13.00)
DC (s)	0.77 ± 0.30 (0.36–1.25)	1.86 ± 0.70 (0.85–3.70)
DUR_N1 (s)	0.045 ± 0.004 (0.036–0.054)	0.063 ± 0.008 (0.048–0.079)
DUR_N2 (s)	0.039 ± 0.003 (0.029–0.045)	0.058 ± 0.008 (0.045–0.073)
DUR_N3 (s)	0.038 ± 0.003 (0.034–0.049)	0.056 ± 0.009 (0.042–0.072)
INT_1 (s)	0.12 ± 0.01 (0.10–0.15)	0.13 ± 0.02 (0.10–0.16)
INT_2 (s)	0.16 ± 0.02 (0.12–0.20)	0.21 ± 0.06 (0.10–0.41)
INT_3 (s)	0.19 ± 0.02 (0.16–0.23)	0.28 ± 0.06 (0.16–0.40)
FP_N1 (Hz)	5698 ± 169 (5383–6008)	5731 ± 258 (5125–6288)
FB_N1 (Hz)	5436 ± 183 (5115–5817)	5170 ± 416 (4583–6075)
FA_N1 (Hz)	5904 ± 163 (5636–6206)	5996 ± 218 (5626–6435)
FP_N2 (Hz)	5623 ± 188 (5276–6000)	5592 ± 251 (5125–6115)
FB_N2 (Hz)	5388 ± 204 (4908–5767)	5146 ± 330 (4596–5961)
FA_N2 (Hz)	5820 ± 180 (5515–6182)	5908 ± 255 (5509–6497)
FP_N3 (Hz)	5584 ± 210 (5168–5953)	5525 ± 224 (5060–5900)
FB_N3 (Hz)	5338 ± 217 (4849–5714)	5091 ± 343 (4618–6003)
FA_N3 (Hz)	5764 ± 205 (5374–6132)	5803 ± 233 (5356–6122)

O modelo de *broken stick* reteve os três primeiros PCs da PCA com dados bioacústicos de *A. tinae*. De acordo com os resultados da PCA, o espaço bioacústico multidimensional ocupado por machos de *A. tinae* do clado IPM Sul não se sobrepõe ao espaço ocupado por machos do clado IPM Norte (Fig. 9: B-D), há apenas uma sobreposição sobre indivíduos do clado norte (pontos azuis sobrepostos entre si), sendo os clados IPM Norte e IPM Sul significativamente distintos (Pillai = 0.90, GL = 13, $p < 0.0001$). O primeiro PC explicou aproximadamente 48.2% da variação dos dados, o segundo PC explicou 25.6% da variação e o terceiro PC explicou 13.7%. Os cinco parâmetros que mais contribuíram no PC 1 foram: FB_N3, FP_N2, FP_N3, DUR_N3 e DUR_N2. Por outro lado, INT_2, FA_N1, DUR_N2, FP_N1 e DUR_N1 foram os parâmetros que mais contribuíram para o PC 2. Os

parâmetros que mais contribuíram para formação do PC3 foram: INT_1, FB_N1, FB_N2, FA_N3 e FB_N3 (Tabela 5).

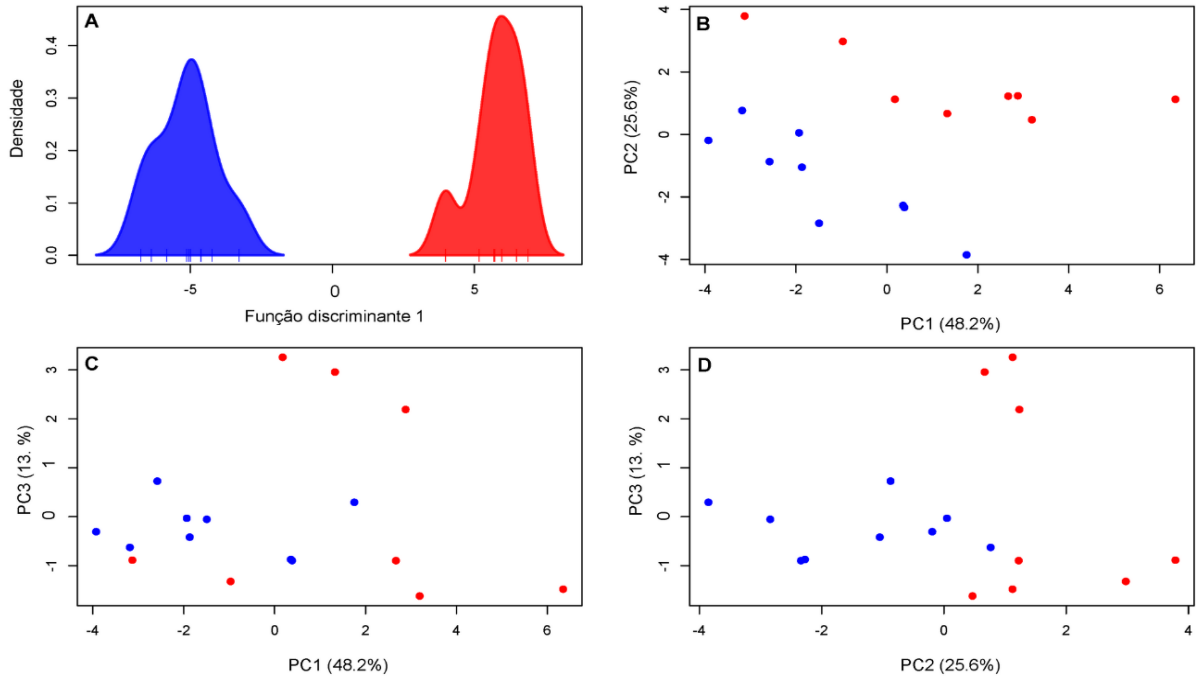


Figura 9. DAPC (A) e PCA (B–D) conduzidas com parâmetros estruturais, temporais e espectrais do canto de anúncio de 17 machos de *Allobates tinae* gravados no IPM, sendo nove machos do clado IPM Norte (pontos azuis) e oito do IMP Sul (pontos vermelhos).

Tabela 5. Contribuição de 16 parâmetros bioacústicos de *Allobates tinae* para os dois primeiros Componentes Principais (PC) gerados por Análise de Componentes Principais. Parâmetros temporais e espectrais foram mensurados com base em 9 machos do clado IPM Norte e 8 machos do IPM Sul. Valores em negrito denotam as cinco variáveis que mais contribuíram com os PCs.

Variável	PC1	PC2	PC3	Variável	PC1	PC2	PC3
NN	0.2702	0.2191	-0.0071	FB_N1	-0.2522	0.0555	-0.4307
DC	0.2736	0.2640	-0.1088	FA_N1	-0.2066	0.3388	0.2097
DUR_N1	0.2584	0.3084	0.0240	FP_N2	-0.3076	0.0771	0.0938
DUR_N2	0.2568	0.3275	-0.0126	FB_N2	-0.2753	0.0546	-0.3799
DUR_N3	0.2743	0.2887	0.0241	FA_N2	-0.2250	0.3050	0.2670
INT_1	0.0479	0.1344	-0.5286	FP_N3	-0.2967	0.2072	0.1242
FP_N1	-0.2487	0.3216	-0.0451	FA_N3	-0.2341	0.2703	0.2978

Os resultados das análises utilizadas no presente estudo foram congruentes entre si e mostraram que indivíduos de *Allobates tinae* do clado IMP Sul e IPM Norte podem ser diferenciados filogeneticamente e através de caracteres morfológicos e bioacústicos. Descrevemos a seguir o clado IMP Norte como uma espécie nova e distinta de *A. tinae* sensu stricto.

4 TAXONOMIA

4.1 *Allobates* sp. nov.

Figuras 10-16.

Grant *et al.*, 2006: 128, Fig. 73.

Santos *et al.*, 2009, material suplementar, Fig. S5A, “*Allobates* sp. ‘castanho’ BR (C) LSUMZ16910 e 16911).

Grant *et al.*, 2017, 29, Fig. 21. *Allobates* sp Manaus *Allobates_sp_Manaus1_MPEG13826*, "Brazil: Amazonas: Castanho: ca. 40 km S Manaus, no km 12 na estrada de Autazes.

Melo-Sampaio, Oliveira & Prates, 2018, pg. 135, Fig. 3 *Allobates tinae*.

4.2 Holótipo

Número de campo APL - 18656 um macho adulto, coletado por A. P. Lima em 16 de dezembro de 2012, no módulo 1 de amostragem do RAPELD no quilômetro 32 da rodovia federal BR-319 (3°21'12.16"S, 59°51'20.27"W); elevação 50 m a.s.l.), no município do Careiro, Amazonas, Brasil.

4.3 Paratopótipos

Dezesseis indivíduos adultos, 13 machos número de campo APL - 17196, 17197, 17198 coletados por A. P. Lima em 15 de fevereiro de 2011, 18654, 18783, 18784 coletados por Eveline Salvático e Moises Melo da Silva em 16 de dezembro de 2012, 22172-22178 coletados por Douglas Lacerda e Natan Melo da Silva entre 20-26 de março de 2017, três fêmeas APL – 22227-22229 coletados por Natan Melo da Silva e Douglas Lacerda, 22-24 de março de 2018, no módulo 1 de amostragem do RAPELD, no quilômetro 34 da rodovia federal BR-319 (3°21'12.16"S, 59°51'20.27"W), no município do Careiro da Várzea, Amazonas.

4.4 Parátipos

Quatro machos adultos APL – 14061, 14065 e 14066, 14067, coletados por A.P. Lima em 07 e 08 de novembro de 2009 no Km 12 da estrada de Autazes 3°28'2.70"S, 59°49'9.16"O), quatro machos APL – 17303, 17304, 17330 e 17347, coletados por A. P. Lima em 20 e 21 de fevereiro de 2011 no módulo 2 de amostragem do RAPELD, no quilômetro 100 rodovia federal BR-319, município do Careiro, Amazonas (3°41'22.13"S, 60°20'6.25"W),

4.5 Material examinado

Macho adulto, APL – 17204, coletado por A. P. Lima em 16 de novembro de 2012 no módulo 4 de amostragem do RAPELD, no quilômetro 220 da rodovia federal BR-319, 4°22'34.69"S, 60°56'55.69"W), cinco machos APL – 19214, 19192, 19212, 19191, 19209 coletado por Eveline Salvático e Moises Melo da Silva em 31 de janeiro de 2013 no módulo 5 de amostragem do RAPELD, no quilômetro 260 da rodovia federal BR-319, três machos adultos APL – 18797, 18823, 18799, coletado por Eveline Salvático e Moises Melo da Silva em 10 de janeiro de 2013, no módulo 7 de amostragem do RAPELD, no quilômetro 350 da rodovia federal BR-319, seis machos adultos APL – 18868, 18870, 18865, 18866, 18868, 18867, coletados por Eveline Salvático e Moises Melo da Silva em 13 e 14 de janeiro de 2013 no módulo 8 de amostragem do RAPELD, no quilômetro 440 da rodovia federal BR-319.

4.6 Etimologia

O nome de *Allobates* sp. nov. não pode ser revelado nessa dissertação devido às regras de descrição de espécies. Porém, informamos que o nome será uma homenagem a Dra. Janalee P. Caldwell, do Museu de História Natural Sam Noble Oklahoma, Norman, Oklahoma, EUA, que orientou a Dra. A. P. Lima a fazer descrições de *Allobates*, e que foi o ponto de partida para o desenvolvimento da maioria do nosso conhecimento atual sobre *Allobates* Amazônicos.

4.7 Diagnose Baseada na série tipo (módulos 1, 2 e Estrada de Autazes Km 12)

Tamanho pequeno, 1) machos medindo 15,56-16,88 (média = 15,56 mm $\pm$ 0,69) fêmeas de 16,64-16,94 mm (média = 16,79 mm $\pm$ 0,15); 2) focinho truncado em vista dorsal, lateral e

ventral; 3) machos e fêmeas adultos em vida possuem superfície dorsal marrom sem desenhos ou machas com textura granular; em animais preservados a superfície dorsal é marrom-claro a creme sem desenhos ou manchas; presença de pigmentos em forma de grânulos com coloração marrom-escuro sobre o dorso e pernas, esses pigmentos em forma de grânulos estão delimitados pela faixa dorsolateral conspícua o que forma uma faixa longitudinal em indivíduos preservados e em vida; 4) presença de faixa dorsolateral conspícua de cor marrom-claro em vida e creme em preservativo; 5) faixa lateral oblíqua é uma mancha difusa no meio da faixa lateral marrom escura indo da região inguinal até próximo ao meio do corpo; 6) a faixa lateral de coloração marrom-escuro é estreita na região das narinas e larga a partir da região posterior das órbitas oculares; 7) faixa ventrolateral em vida é irregular e segmentada de cor branca iridescente, conspícua somente entre o braço e o meio do ventre; ausente em animais preservados; 8) presença de marca paracloual de coloração pálida em forma de meia-lua; 9) em vida tórax, garganta e abdômen de machos adultos é amarelo ouro translúcido; melanóforos, quando presentes estão concentrados na região da mandíbula; no material preservado o tórax, a garganta e abdômen possuem coloração creme; 10) fêmeas adultas com garganta, tórax e ventre amarelo esbranquiçado sem melanóforos, em material preservado ou em vida; 11) íris é dourada com padrão reticulado preto; 12); saco vocal distinto, único, cobrindo 2/3 da região gular e o tórax; 13) processo lingual mediano ausente; 14) tímpano arredondado com 40% do comprimento do olho, membrana timpânica parcialmente conspícua; 15); escudos digitais em todos os dedos; 16) terceira falange no dedo III (IV segundo Grant *et al.* 2017) da mão dos machos sem inchaço, dedo III dos machos mais largo que das fêmeas e de largura uniforme ao longo de todas as falanges; 17) dedo III (IV segundo Grant *et al.* 2017) das fêmeas de largura irregular, falange basal mais larga que as falanges medial e distal; 18) sem tubérculo distal no dedo IV; 19) dedo II é subigual ao I, em torno de 0,10 mm mais curto que o dedo I; 20) dedo II é 0,89 mm em média mais curto que o dedo IV; 21) falange distal do dedo III com 0.33 mm em média, aproximadamente 71% da largura do disco no dedo III; 22) a ponta do dedo IV não alcança o tubérculo distal do dedo III quando os dedos são justapostos; 23) tubérculo tenar oval com 0,26 mm de largura em média, 54% do tubérculo palmar; 24) sem prega metacarpal; 25) quilha tarsal curta em forma de tubérculo, curvado e não alcança o tubérculo metatarsal; 26) membrana basal presente entre os dedos III e IV do pé; 27) testículos não pigmentados; 28) oócito maduro pigmentado (1/3 negro e 2/3 branco); 29) coloca os ovos em ninhos de gelatina transparente em folhas mortas enroladas, dobradas ou sobrepostas no chão da floresta; 30) disco oral dos girinos emarginado; 31)

apresentam lábio anterior com três ou quatro papilas triangulares e curtas, presente nas margens laterais do lábio, lábio posterior inteiramente cercado por uma fileira de 12 ou 14 papilas triangulares, com tamanho semelhante na margem pósterolateral e pósteromedial; 32) machos adultos vocalizam durante o dia; 33) possui cantos de anúncio com duração média de $0.77 \text{ s} \pm 0.30$ (0.36–1.25 s) e são compostos por 5 ± 1 (3–7) notas com duração média de $0.041 \text{ s} \pm 0.004$ (0.029–0.054 s); duração média do intervalo silencioso entre notas é de $0.15 \text{ s} \pm 0.03$ (0.10–0.23 s).

A nova espécie é atribuída inequivocamente ao gênero *Allobates* pela combinação dos caracteres acima (13), (26), (27), (30) e (32) e pela característica genética indicada no presente trabalho, em Grant *et al.* (2006, 2017) e Melo-Sampaio *et al.* (2018).

4.8 Descrição do holótipo

Allobates sp. nov. APL 18656, macho adulto com SVL de 14,70 mm (medidas disponíveis na Tabela 6). Cabeça mais larga do que longa, o comprimento da cabeça representa 84% da largura da cabeça; largura da cabeça com 33% do SVL; o focinho é truncado em vista dorsal, ventral e lateral (Fig. 10: A, B e C); a ponta do focinho é truncada e se estendendo após a mandíbula inferior (Fig. 10: C); comprimento do focinho com 36% da largura da cabeça; a distância entre as narinas é 43% da largura da cabeça; distância do olho à narina é 70% do diâmetro do olho; narinas localizadas posterolateralmente; tímpano arredondado com 35% do comprimento do olho; membrana timpânica fracamente conspícua; processo lingual mediano ausente; saco vocal único cobre 2/3 da região gular e tórax; fendas vocais presentes.

O antebraço (FAL) é mais robusto e menor que o braço, representando 82% do comprimento do braço (UAL); HAND III é 23% do SVL; o dedo I é 0,10 mm mais longo que o dedo II; o dedo II é mais curto que o dedo IV (HAND II: 2,40 mm e HAND IV: 3,20 mm); o comprimento relativo dos dedos é III>IV>I>II, a ponta do dedo IV não alcança o tubérculo distal do dedo III quando os dedos são justapostos. Dedo III com a largura das falanges similares. Ausência de inchaço no dedo III; largura da falange distal do dedo III com 0,45 mm, aproximadamente 78% da largura do disco no dedo III; discos no dedo I e II sem expansão, nos dedos III e IV moderadamente expandidos; escudos digitais em todos os dedos; franjas laterais e membranas basais ausentes entre os dedos; tubérculo palmar levemente arredondado, com diâmetro de 0,50 mm, cerca de 15% do comprimento do dedo III; tubérculo

tenar oval com 0,25 mm de largura, aproximadamente 50% do tubérculo palmar; dedos I, II e IV apresentam um tubérculo subarticular redondo; dedo III com dois tubérculos subarticulares redondos; sem prega metacarpal (Fig. 11: A).

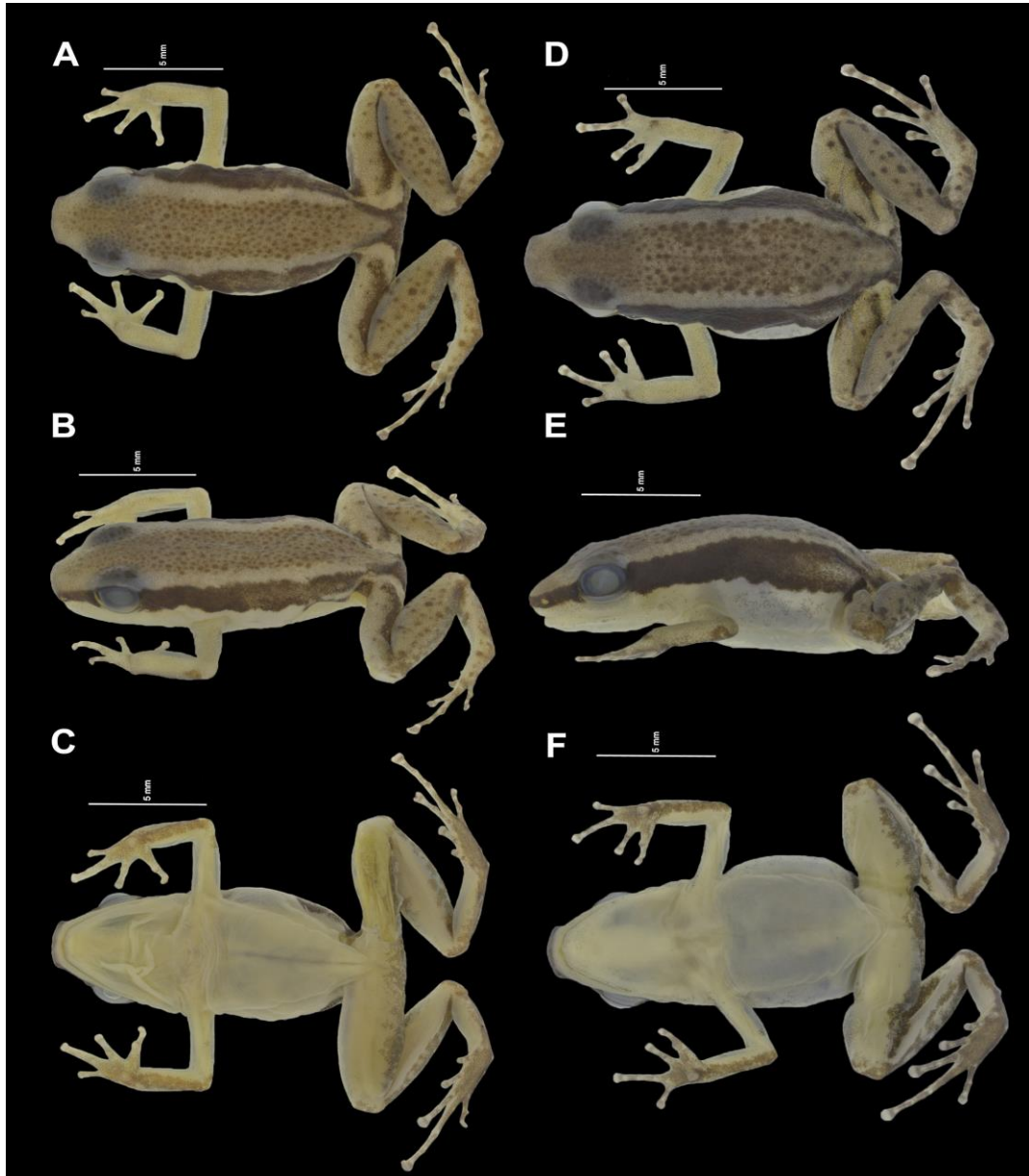


Figura 10. (A) Visão dorsal do holótipo (APL 18656) de *Allobates* sp. nov., pontos em forma de grânulos marrom-escuro distribuídos sobre o centro de todo o dorso, e região posterior do braço sem manchas, (B) em visão lateral evidenciando a faixa dorsolateral, lateral e ausência de faixa ventrolateral, (C) em visão ventral expondo o ventre translúcido claro e região da coxa, região da garganta sem melanóforos. (D-F) Fêmea, paratopótipo APL - 22229, (D) visão dorsal, note as manchas sobre as órbitas oculares, (E) visão lateral, evidenciando a faixa oblíqua lateral difusa, (F) visão ventral evidenciando o ventre quase transparente e ausência de melanóforos na região da garganta. Fotos: Jeni Magnusson.

Membros posteriores robustos; tíbia com 50% do SVL; fêmur com 96% da tíbia e 48% do SVL; o pé corresponde a 44% do SVL; comprimento relativo dos dedos do pé IV > III > V > II > I. Presença de um tubérculo subarticular nos dedos I e II do pé; dois nos dedos III e V; três no dedo IV. Tubérculo subarticular basal no dedo do pé IV mal definido (Fig. 10: A). Membrana basal presente entre os dedos III e IV. Quilha tarsal curta em forma de tubérculo curvado 1,2 mm do tubérculo metatarsal, não conectado por membrana (Fig. 12: A).

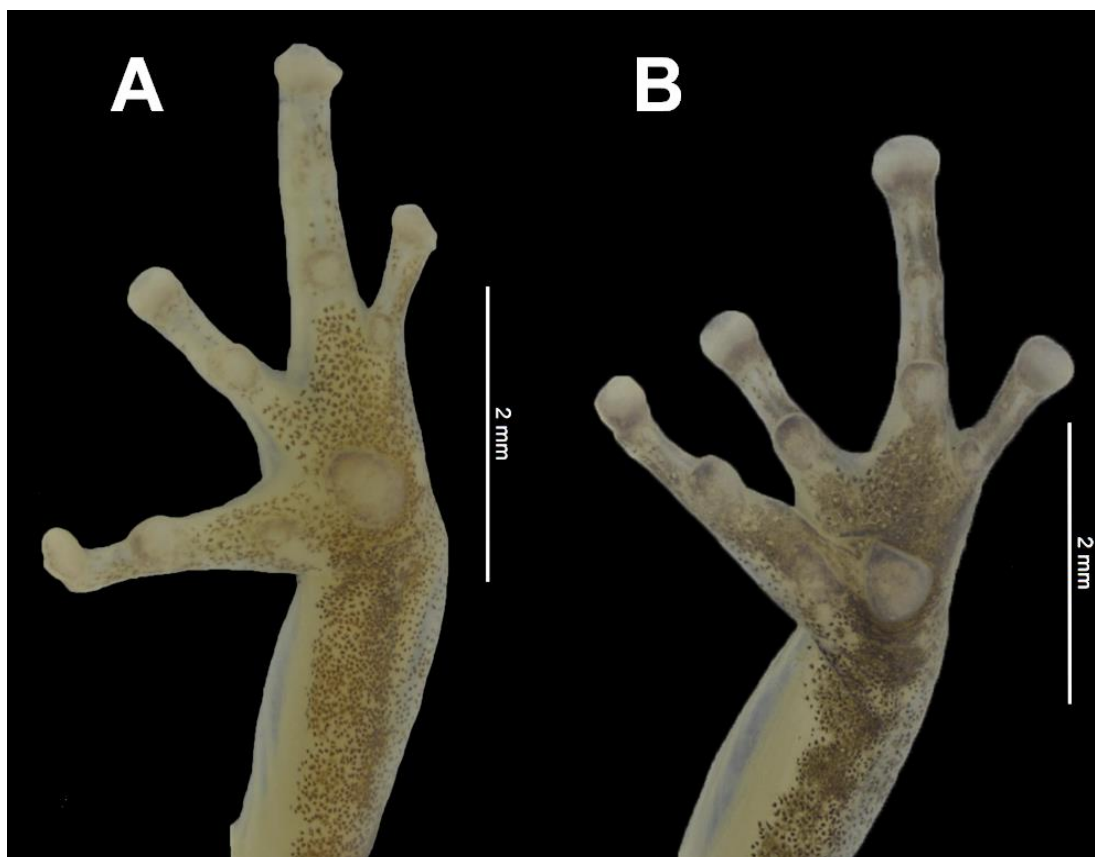


Figura 11. (A) Visão ventral da mão do holótipo (APL 18656), com tubérculo palmar quase redondo, tenar oval. (B) Superfície ventral da mão da fêmea paratopótipo (APL 22229) de coloração marrom, causada por aglomeração de melanóforos, falanges de largura irregular no dedo III. Note que o dedo do macho é mais largo que o da fêmea. Fotos: Jeni Magnusson.

4.9 Descrição da cor do Holótipo em preservativo

A cor de fundo da superfície dorsal é creme, sobre esse fundo há muitos pontos em forma de grânulos marrom escuros distribuídos sobre o centro de todo o dorso, sobre os olhos há uma mancha marrom escura (Fig. 10: A). Como o fundo da superfície dorsal é creme e existe esse adensamento de grânulos no centro, as faixas dorsolaterais delimitam uma faixa central marrom que se estende da região anterior do focinho ao uróstilo (Fig. 10: A e B).

Faixa lateral marrom escura bem definida, que circunda o focinho, na parte anterior entre os olhos mais fina, e na parte posterior aos olhos mais larga, sendo bem delimitada até dois terços do corpo, após possui uma região mais clara no centro da faixa, formando uma faixa difusa oblíqua. Parte superior do tímpano é coberto pela faixa lateral marrom-escuro e parte inferior de cor creme (Fig. 10: B).

A superfície ventral, da garganta, das pernas e dos braços são de coloração creme, o ventre possui coloração creme translúcido. Superfície ventral do pé e da mão possuem coloração creme, com grânulos marrom escuros (Fig. 10: C; 11: A). Superfície dorsal dos membros posteriores possuem coloração creme com alguns melanóforos, sem faixas transversais na tíbia ou pés. Superfície anterior e posterior da coxa e região paracloacal marrom-escuro. Superfície posterior do braço sem machas marrons (Fig. 10: B).



Figura 12. (A) Pé do holótipo (APL 18656) de *Allobates* sp. nov., note a presença de um tubérculo subarticular nos dedos I e II, dois nos dedos III e V, três no dedo IV e o tubérculo subarticular basal no dedo IV mal definido, presença de quilha tarsal em forma de tubérculo. (B) Pé da fêmea paratopótipo (APL 22229) apresentando o mesmo número de tubérculos subarticulares presentes no macho e quilha tarsal. Fotos: Jeni Magnusson.

4.10 Variação morfológica na série tipo

Uma Análise de Componentes Principais (PCA) gerada a partir de 15 razões morfométricas dos machos não mostrou diferenças morfológicas entre os indivíduos da região da série-tipo (localidade-tipo [módulos 1 e 2 no km 32 da rodovia federal BR-319 e km 12 da estrada de Autazes]) e dos indivíduos mais ao sul pertencentes aos módulos 4, 5, 7 e 8 (T-teste: $t = 0.187$, d.f. = 32, $P = 0.071$; PCA2 - $t = 0.60$, d.f. = 32, $P = 0.55$). O primeiro componente principal (PCA1) explicou 29% e o segundo (PCA2) 15% da variação nas medidas morfométricas usando as razões que já consideram o efeito do SVL.

Portanto, descrevemos variação na média de 4 fêmeas e 36 machos. Medidas morfométricas de machos e fêmeas estão na tabela 6.

O comprimento da cabeça nos machos corresponde a $86\% \pm 0,05$, variações apresentadas no parênteses (71–96%) do HW; a largura da cabeça nos machos corresponde a $33\% \pm 0,02$ (30–38%) do SVL, fêmeas $31\% \pm 0,01$ (31–32%); o comprimento do focinho em relação à largura da cabeça é de $37\% \pm 0,04$ (31–46%); distância ente narinas em relação à largura da cabeça é de $42\% \pm 0,02$ (36–45); distância do olho à narina corresponde à $66\% \pm 0,06$ (51–79%) do diâmetro do olho; tímpano arredondado, corresponde à $39\% \pm 0,06$ (24–54%) do comprimento do olho.

Comprimento do antebraço corresponde a $89\% \pm 0,05$ (75–99%) do braço; o HAND3 nos machos corresponde a $23\% \pm 0,01$ (21–27%), em fêmeas $21\% \pm 0,00$ (20–21%) do SVL. Tubérculo palmar corresponde a $30\% \pm 0,01$, (30–40%) do comprimento do dedo III; largura da falange distal do dedo III aproximadamente $69\% \pm 0.10$ (0.55-99%) da largura do disco no dedo III, tubérculos subarticulares nos dedos da mão são semelhantes em tamanho e número aos do holótipo em todos os indivíduos (Fig. 11).

Membros posteriores robustos, o comprimento da tibia em machos corresponde a $49\% \pm 0,03$ (44–57%) do SVL e em fêmeas $46\% \pm 0,01$ (46–47%); o comprimento do pé em relação ao SVL foi de $43\% \pm 0.02$ (39–49%) nos machos e fêmeas; comprimento relativo dos dedos do pé IV > III > V > II > I. Presença de um tubérculo subarticular bem definido nos dedos I (oval) e II (redondo) do pé ; dois nos dedos III e V, pequenos redondos e mal definido; três no dedo IV, muito pequeno e mal definido especialmente o tubérculo subarticular basal. Franja tarsal ausente. Quilha tarsal curta em forma de tubérculo curvado e não se estende até tubérculo metatarsal interno; Discos dos dedos dos pés I e V fracamente expandidos e II, III e

IV moderadamente expandido. Membrana basal presente entre os dedos III e IV. Franja basal entre os dedos II e III. (Fig. 12).

Tabela 6. Vinte e três medidas morfométricas aferidas a partir de 40 indivíduos de *Allobates* sp. nov. (36 machos e 4 fêmeas), série-tipo composta por 25 indivíduos das localidades M1 e Km 12 da estrada de Autazes, foram utilizados também quinze indivíduos coletados mais ao norte nos módulos 4, 5, 7 e 8 do RAPELD. Além disso foram medidos 39 indivíduos de *Allobates tinae*, disposição dos dados seguem: média $\pm$ desvio padrão. (Variação mínima e máxima). Acrônimos detalhados em Material e Métodos.

<i>Allobates</i> sp. nov.						<i>Allobates tinae</i>	
		M1, M2 e KM 12 (Série tipo)		M4-M8			
Caracteres	Holótipo	Machos (n = 22)	Fêmeas (n = 3)	Machos (n = 14)	Fêmea (n = 1)	Machos (n = 32)	Fêmeas (n = 7)
SVL	14.70	15.56 $\pm$ 0.69 (15.56-16.88)	16.79 $\pm$ 0.63 (16.64-16.94)	14.84 $\pm$ 0.61 (14.30-15.68)	15.73	15.72 $\pm$ 0.62 (14.71-17.11)	17.00 $\pm$ 0.65 (15.74-17.70)
HL	4.10	4.242 $\pm$ 0.23 (4.00-4.90)	4.40 $\pm$ 0.10 (4.30-4.50)	4.43 $\pm$ 0.32 (3.90-4.90)	4.10	4.50 $\pm$ 0.37 (3.90-5.70)	4.53 $\pm$ 0.20 (4.15-4.75)
HW	4.90	5.11 $\pm$ 0.15 (4.80-5.40)	5.27 $\pm$ 0.06 (5.20-5.30)	5.03 $\pm$ 0.26 (4.70-5.60)	5.00	5.23 $\pm$ 0.24 (4.70-5.80)	5.35 $\pm$ 0.12 (5.10-5.45)
SL	1.75	1.83 $\pm$ 0.20 (1.55-2.20)	2.18 $\pm$ 0.03 (2.15-2.20)	1.94 $\pm$ 0.27 (1.50-2.35)	2.10	2.20 $\pm$ 0.24 (1.65-2.75)	2.26 $\pm$ 0.06 (2.15-2.35)
EN	1.40	1.45 $\pm$ 0.13 (1.20-1.65)	1.50 $\pm$ 0.05 (1.45-1.55)	1.36 $\pm$ 0.14 (1.15-1.60)	1.35	1.48 $\pm$ 0.10 (1.25-1.75)	1.53 $\pm$ 0.08 (1.40-1.65)
IN	2.10	2.15 $\pm$ 0.08 (2.05-2.30)	2.20 $\pm$ 0.05 (2.15-2.25)	2.05 $\pm$ 0.10 (1.90-2.20)	2.10	2.13 $\pm$ 0.09 (2.00-2.30)	2.24 $\pm$ 0.10 (2.05-2.35)
EL	2.00	2.12 $\pm$ 0.10 (1.95-2.25)	2.17 $\pm$ 0.03 (2.15-2.20)	2.24 $\pm$ 0.24 (1.95-2.60)	2.10	2.18 $\pm$ 0.11 (2.00-2.50)	2.23 $\pm$ 0.10 (2.05-2.35)
IO	4.00	4.33 $\pm$ 0.17 (3.95-4.60)	4.52 $\pm$ 0.05 (4.45-4.60)	4.12 $\pm$ 0.11 (4.00-4.30)	4.40	4.37 $\pm$ 0.22 (4.00-4.70)	4.56 $\pm$ 0.15 (4.30-4.75)
TYM	0.70	0.83 $\pm$ 0.12 (0.70-1.05)	0.98 $\pm$ 0.03 (0.95-1.00)	0.81 $\pm$ 0.11 (0.60-0.96)	0.90	0.86 $\pm$ 0.15 (0.50-1.10)	1.04 $\pm$ 0.08 (0.90-1.15)
FAL	3.00	3.35 $\pm$ 0.25 (2.90-3.80)	3.40 $\pm$ 0.09 (3.30-3.45)	3.46 $\pm$ 0.35 (2.85-3.95)	3.20	3.41 $\pm$ 0.26 (2.90-4.00)	3.46 $\pm$ 0.15 (3.20-3.75)
UAL	3.65	3.81 $\pm$ 0.22 (3.45-4.10)	3.87 $\pm$ 0.12 (3.80-4.00)	3.73 $\pm$ 0.26 (3.30-4.15)	3.60	3.93 $\pm$ 0.17 (3.45-4.25)	3.96 $\pm$ 0.27 (3.50-4.25)
HAND I	2.50	2.72 $\pm$ 0.12 (2.50-2.95)	2.95 $\pm$ 0.05 (2.90-3.00)	2.76 $\pm$ 0.16 (2.40-3.10)	2.70	2.92 $\pm$ 0.18 (2.35-3.20)	3.01 $\pm$ 0.18 (2.65-3.20)
HAND II	2.40	2.54 $\pm$ 0.10 (2.40-2.75)	2.70 $\pm$ 0.05 (2.65-2.75)	2.53 $\pm$ 0.015 (2.30-2.80)	2.55	2.63 $\pm$ 0.12 (2.40-2.85)	2.76 $\pm$ 0.15 (2.50-2.95)
HAND III	3.35	3.50 $\pm$ 0.14 (3.25-3.70)	3.47 $\pm$ 0.08 (3.40-3.55)	3.55 $\pm$ 0.22 (3.20-3.90)	3.35	3.53 $\pm$ 0.17 (3.25-3.90)	3.54 $\pm$ 0.13 (3.30-3.70)
HAND IV	3.20	3.43 $\pm$ 0.14 (3.20-3.65)	3.52 $\pm$ 0.03 (3.50-3.55)	2.88 $\pm$ 0.54 (2.25-3.55)	3.40	3.31 $\pm$ 0.40 (2.25-3.70)	3.59 $\pm$ 0.13 (3.35-3.75)
WFD	0.45	0.47 $\pm$ 0.02 (0.45-0.50)	0.55 $\pm$ 0.00 (0.55-0.55)	0.46 $\pm$ 0.03 (0.40-0.52)	0.45	0.53 $\pm$ 0.04 (0.44-0.62)	0.58 $\pm$ 0.06 (0.45-0.65)
TL	7.30	7.48 $\pm$ 0.32 (6.80-8.00)	7.73 $\pm$ 0.12 (7.60-7.80)	7.32 $\pm$ 0.28 (6.90-7.80)	7.20	7.51 $\pm$ 0.34 (6.80-8.20)	7.90 $\pm$ 0.32 (7.40-8.30)
FL	6.50	6.65 $\pm$ 0.30 (6.10-7.40)	7.17 $\pm$ 0.15 (7.00-7.30)	6.49 $\pm$ 0.26 (6.00-7.00)	6.70	6.77 $\pm$ 0.32 (6.20-7.30)	7.25 $\pm$ 0.29 (6.70-7.55)
LL	7.00	7.20 $\pm$ 0.27 (6.70-7.60)	7.53 $\pm$ 0.15 (7.40-7.70)	6.86 $\pm$ 0.24 (6.50-7.30)	7.00	7.33 $\pm$ 0.32 (6.80-8.00)	7.66 $\pm$ 0.30 (7.10-8.00)
DPT	0.50	0.48 $\pm$ 0.04 (0.45-0.55)	0.53 $\pm$ 0.03 (0.50-0.55)	0.47 $\pm$ 0.06 (0.40-0.60)	0.45	0.51 $\pm$ 0.05 (0.44-0.60)	0.56 $\pm$ 0.07 (0.45-0.65)
WTT	0.25	0.27 $\pm$ 0.06 (0.20-0.40)	0.27 $\pm$ 0.03 (0.25-0.30)	0.23 $\pm$ 0.05 (0.15-0.30)	0.20	0.28 $\pm$ 0.06 (0.20-0.40)	0.31 $\pm$ 0.07 (0.20-0.40)
WTD	0.60	0.57 $\pm$ 0.07 (0.45-0.70)	0.63 $\pm$ 0.03 (0.60-0.65)	0.52 $\pm$ 0.08 (0.40-0.68)	0.55	0.68 $\pm$ 0.08 (0.50-0.88)	0.70 $\pm$ 0.08 (0.55-0.80)
WPF	0.35	0.32 $\pm$ 0.04 (0.25-0.40)	0.32 $\pm$ 0.03 (0.30-0.35)	0.33 $\pm$ 0.05 (0.25-0.45)	0.25	0.39 $\pm$ 0.06 (0.25-0.56)	0.34 $\pm$ 0.05 (0.25-0.40)

4.11 Variação da cor em vida na série tipo

Em indivíduos vivos, machos e fêmeas adultos apresentam coloração dorsal de fundo marrom, sem desenhos ou manchas, pigmentos em forma de grânulos marrom-escuros estão dispostos sobre o dorso em todos os indivíduos (Fig. 13: A, D-F). Possuem faixa dorsolateral conspícua de cor marrom-claro iniciando na altura das pálpebras e estendendo-se até a região do uróstilo (Fig. 13: D-F). A faixa lateral de coloração marrom-escuro começa na ponta do focinho e estendendo-se até a região inguinal, sendo estreita na ponta do focinho, se alargando gradativamente até a porção anterior das órbitas e fica mais larga a partir da região posterior das órbitas oculares, sendo uniforme até dois terços do corpo, a partir do qual é interrompida pela faixa lateral oblíqua, caracterizada como uma mancha difusa no meio da faixa lateral marrom-escuro (Fig. 13: B, D-F). Possuem faixa ventrolateral, interrompida, irregular de coloração iridescente esbranquiçada bem definida logo após o tímpano e difusa a partir do meio do corpo, em alguns indivíduos desaparece na região inguinal (Fig. 13: B, D e E).

Superfície dorsal do braço é marrom-alaranjado em machos e fêmeas; na inserção do braço com o corpo superfície interior da mão e dedos I e II com tons amarelo translúcido em machos (Fig. 13 A, B e D). Em fêmeas a superfície dorsal das mãos é marrom-claro (Fig. 13 F). A cor de fundo da superfície dorsal da perna é marrom; com presença de pigmentos em forma de grânulos marrom-escuros em machos (Fig. 13 D) e fêmeas (Fig. 13 E); a região inguinal e a parte posterior das coxas marrom-escuro (Fig. 13: A, B, D e E); possuem uma marca paracloacal pálida em forma de meia-lua (Fig. 13: D); sem barras transversais na tíbia ou pé (Fig. 13: A, B, D-F). Superfície ventral amarela em ambos os sexos, machos amarelo ouro e fêmeas amarelo-claro. Região ventral da coxa e tíbia amarelo-claro translúcido em machos e em fêmeas amarelo mais claro tendendo a cor creme. (Fig. 13: C). Tórax e garganta de machos adultos amarelo ouro translúcido com alguns espaçados melanóforos na região da mandíbula. Dois indivíduos apresentam alguns melanóforos no saco vocal; abdômen amarelo sem melanóforos. Fêmeas adultas com garganta, tórax e abdômen de cor amarela, com uma tonalidade esbranquiçada na região central onde a endoderme é branca, sem melanóforos. Íris é dourada com padrão reticulado preto. O recém metamórfico é marrom claro com a faixa dorso lateral visível (Fig. 13 F).

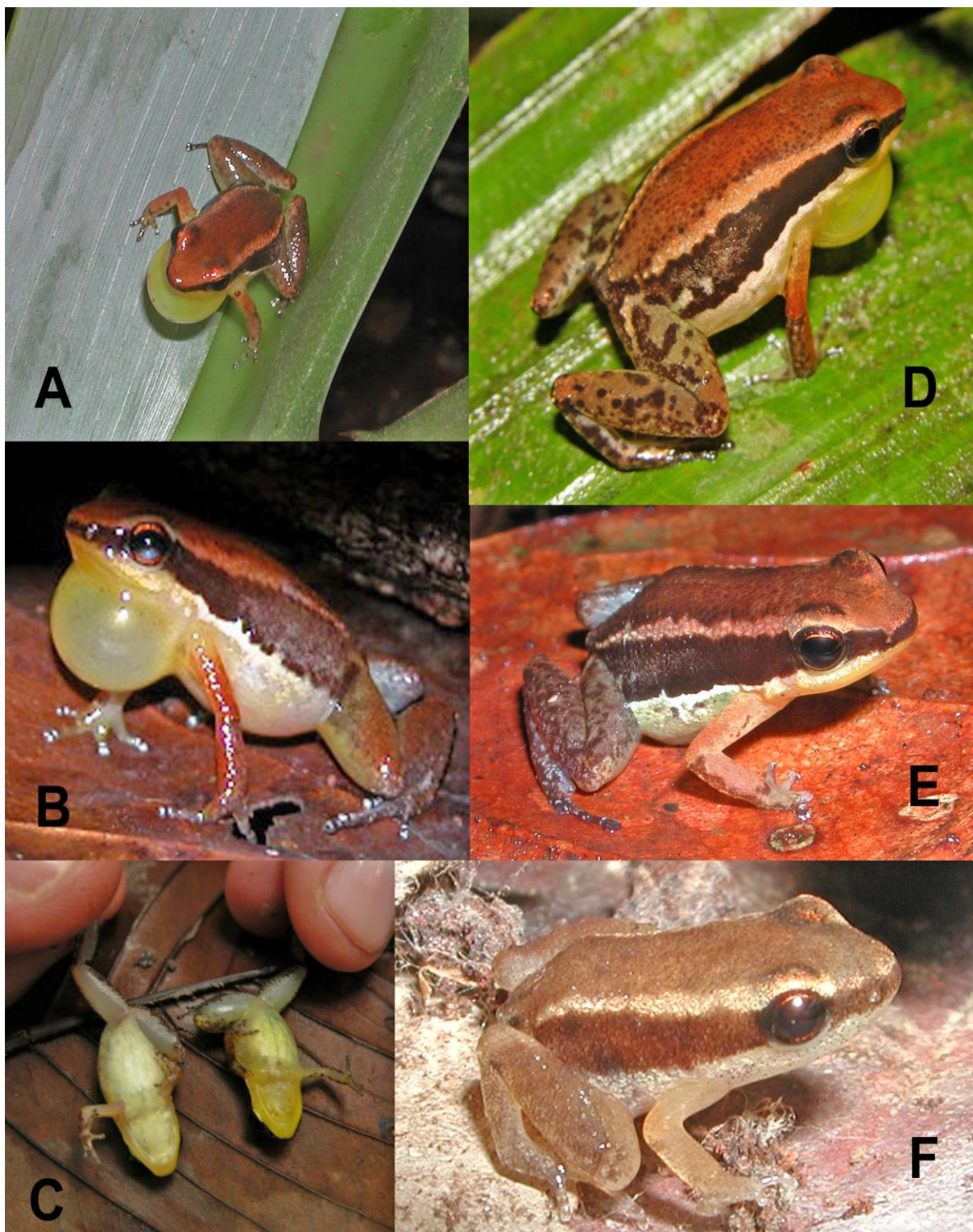


Figura 13. Variação de cor em vida da *Allobates* sp. nov.: machos (A, B e D) com visto do padrão e coloração da superfície dorsal saco vocal, faixa dorsolateral, faixa lateral com a faixa oblíqua difusa e linha ventrolateral descontínua e iridescente esbranquiçada; (C) padrão da superfície ventral de macho à direita e fêmea à esquerda, observe o dimorfismo na coloração da garganta; (E) fêmeas com padrão de coloração dorsal, e faixas similares aos machos; (F) recém-metamórfico, com diferentes tons de marrom e faixa dorsolateral visível. Fotos: A. P. Lima.

4.12 Comparações com outras espécies

A nova espécie é comparada com todas as espécies que ocorrem no Brasil, duas espécies adicionais distribuídas no Escudo da Guiana (*Allobates granti* e *Allobates amissibilis*) e uma espécie adicional da Venezuela (*Allobates algorei*).

Allobates sp. nov. é uma espécie pequena possui coloração marrom na superfície dorsal do corpo, o abdômen amarelo e não dispõe de machas femorais de cores vermelhas ou amarelas ou qualquer região do corpo com cor negra, através desses caracteres distingue-se de todas as espécies descritas do grupo *femoralis* (*Allobates zaparo* (Silverstone, 1976), *A. femoralis* (Boulenger 1883), *Allobates myersi* (Pyburn 1981) e *Allobates hodli* Simões, Lima & Farias 2010).

Allobates sp. nov. é distinta de *Allobates masniger*, *Allobates vanzolinus* (Morales, 2002), *Allobates nidicola* (Caldwell & Lima, 2003), *Allobates paleovarzensis* Lima, Caldwell, Biavati, & Montanarin, 2010, e *Allobates flaviventris* Melo-Sampaio, Souza, & Peloso, 2013, *Allobates juami* Simões, Gagliardi-Urrutia, Rojas-Runjaic, & Castroviejo-Fisher, 2018 por seu SVL menor, (machos e fêmeas com SVL máximo < 17,00 mm em *Allobates* sp. nov.), enquanto em *A. nidicola*, *A. juami*, *A. paleovarzensis*, *A. flaviventris*, *A. masniger*, *A. vanzolinus* o SVL é maior que 17,10 mm. Além de possuir tamanho menor os machos adultos da *Allobates* sp. nov. podem ser diferenciados por possuírem as regiões da garganta e tórax amarelo em indivíduos vivos e creme nos indivíduos em preservativo, sendo cinza, cinza-escuro ou cinza-violeta em indivíduos vivos e cor escura em indivíduos preservados de *Allobates nidicola*, *A. paleovarzensis*, *A. flaviventris*, *A. masniger*, *A. vanzolinus*. *Allobates juami* possui uma única barra na região média da tíbia, que pode ser completa ou incompleta (*Allobates* sp. nov. não apresenta barras nos membros posteriores).

Allobates sp. nov. é facilmente distinguido do grupo da mata Atlântica *Allobates olfersioides* (Lutz, 1925) (Grant *et al.*, 2017), por não possuir um desenho no dorso em forma de X, ou um padrão cruzado.

Allobates sp. nov. tem sobreposição em tamanho com *Allobates trilineatus* (Boulenger, 1884), *Allobates marchesianus* (Melin, 1941), *A. brunneus* (Cope, 1887) (Lima *et al.*, 2009), *Allobates caeruleodactylus* (Lima & Caldwell, 2001), *Allobates conspicuus* (Morales, 2002) *Allobates crombiei* (Morales, 2002) (Lima *et al.* 2012), *Allobates fuscillus* (Morales, 2002), *Allobates gasconi* (Morales, 2002), *Allobates sumtuosus* (Morales, 2002), *Allobates granti* (Kok, MacCulloch, Gaucher, Poelman, Bourne, Lathrop & Lenglet, 2006),

Allobates subfolionidificans (Lima, Sanchez & Souza, 2007), *Allobates algorei* Barrio-Amorós & Santos, 2009, *Allobates amissibilis* Kok, Hölting & Ernst, 2013, *Allobates grillisimilis* Simões, Sturaro, Peloso & Lima, 2013a, *Allobates magnussoni* Lima, Simões & Kaefer, 2014 e *Allobates bacurau* Simões, 2016. Os machos de *Allobates* sp. nov. possuem garganta amarela em vida e creme em indivíduos preservados, por esse caracteres são facilmente diferenciados de *Allobates trilineatus* (Grant & Rodríguez 2001), *A. magnussoni*, *A. amissibilis*, *A. granti*, *A. marchesianus* (Caldwell et al. 2002), *A. algorei*, *A. gasconi*, *A. fuscillus*, *A. bacurae* e *A. conspicuus* que possuem garganta em diferentes tons de cinza ou cinza-violeta em vida e gargantas escuras em indivíduos preservados.

Allobates sumtuosus (Simões et al. 2013b), *A. caeruleodactylus*, *A. subfolionidificans*, *A. grillisimilis* e *A. crombiei* (Lima et al. 2012) possuem a garganta em tons branco, branco translúcido ou transparente esbranquiçado.

Allobates magnussoni, *A. brunneus*, *A. algorei*, *A. crombiei* e *A. gasconi* possuem um desenho em forma de ampulheta ou mancha sobre dorso (Lima et al. 2014), (*Allobates* sp. nov., não possui qualquer desenho ou mancha). *A. caeruleodactylus* difere da nova espécie por possuir dedos azuis celestes (em vida *Allobates* sp. nov. os dedos são marrons). *A. grillisimilis* possui uma ou mais barras transversais castanho-escuras nas superfícies dorsais das coxas e braços em vida e em animais preservados, (ausência de barras transversais nas superfícies dorsais das coxas e braços em *Allobates* sp. nov.). *A. conspicuus* também pode ser diferenciada por machos possuírem o terceiro (ou quarto) dedo da mão alargado, (a nova espécie possui o terceiro dedo da mão sem alargamento).

Allobates tapajos Lima, Simões & Kaefer, 2015 é uma espécie semelhante a *Allobates* sp. nov., contudo, pode ser facilmente distinguida pela presença de manchas escuras difusas dispersas sobre o dorso (dorso uniforme e sem manchas em *Allobates* sp. nov.), ausência de faixa dorsolateral e ventrolateral em indivíduos vivos ou preservados (faixa dorsolateral e ventrolateral presentes em indivíduos vivos em *Allobates* sp. nov.) e o canto é contínuo e constituído principalmente por pares de notas (canto em série de 5 ou 7 notas com intervalo silencioso regular entre as séries em *Allobates* sp. nov.).

A espécie *Allobates tinae* pode ser confundida com a espécie descrita no presente trabalho, por ter sobreposição no tamanho e em alguns parâmetros da morfologia, mas pode ser distinta da nova espécie (comparações em parênteses) por possuir coloração branca na superfície ventral, garganta e tórax das fêmeas em vida (*Allobates* sp. nov. possui coloração amarela). Garganta e tórax dos machos com grande quantidade de melanóforos (*Allobates* sp.

nov. sem melanóforos, ou poucos concentrados na região da mandíbula). Dedo III (IV segundo Grant *et al.* 2017) de machos e fêmeas com as falanges basais mais largas que as falanges mediais e distais (em *Allobates* sp. nov. o dedo III dos machos tem largura uniforme ao longo de todas as falanges, sendo mais largo que o dedo das fêmeas). O FAL é mais longo que o braço (*Allobates* sp. nov. FAL é mais robusto e curto que o braço - UAL).

Diferem ainda estatisticamente no canto de anúncio por *Allobates* sp. nov. possuir menor duração do canto (série) e nota, , menor número de notas por série, e menor duração do intervalo silencioso entre notas . (Ver a sessão: comparação do canto de anúncio com outras espécies).

4.13 Descrição dos girinos

Os estágios de desenvolvimento seguiram Gosner (1980). A descrição foi baseada nos 12 girinos do estágio 36 e as medidas dos outros girinos nos diferentes estágios estão representadas na (Tabela 7). Em visão dorsal o corpo é ovoide, com extremidade final do corpo truncada (Fig. 14: A), e triangular em vista lateral (Fig. 12: B). Comprimento do corpo (BL) possui em média comprimento de $6,69 \pm 0,14$ mm e corresponde a 31% do comprimento total (TL) e o comprimento da cauda (TAL) é em média $14,78 \pm 0,34$ mm e representa 69% do TL que possui comprimento médio de $21,47 \pm 0,47$ mm; corpo ligeiramente mais largo que profundo, altura do corpo (BH) em média $2,67 \pm 0,05$ mm e corresponde a 54% da largura do corpo (BW) ao nível do espiráculo que tem em média $4,90 \pm 0,19$ mm; largura da cabeça no nível dos olhos (HWLE) em média $4,49 \pm 0,21$ mm, representa 92% da BW; focinho arredondado em vista lateral e dorsal; a distância entre olhos e narinas (END) com comprimento médio de $0,71 \pm 0,04$ mm correspondendo a 75% do diâmetro do olho (ED); olhos dorsais e dirigidos dorsolateralmente; ED $0,95 \pm 0,05$ mm; a distância média entre os olhos (IOD) é de $1,18 \pm 0,06$ mm representando 26% do HWLE. As narinas são visíveis, amplamente espaçadas, pigmentadas e localizadas dorsalmente e dirigidas anteriormente; a distância média entre as narinas é $1,10 \pm 0,06$ mm. Espiráculo no lado esquerdo, localizado na porção central do corpo, formado por um tubo livre de $0,55 \pm 0,05$ mm com abertura dirigida posterodorsalmente (Fig. 14: B). Tubo anal destro, longo, aderido à nadadeira ventral e com comprimento médio de $1,36 \pm 0,07$ mm. Intestino longo enrolado, ocultando outros órgãos em vista ventral, deslocado para a direita. Musculatura caudal robusta, mais larga na inserção corpo-cauda ($1,97 \pm 0,05$ mm), reduzindo posteriormente ($0,99 \pm 0,04$ no meio) até o final da

cauda ($0,22 \pm 0,05$). Nadadeira dorsal se inicia em $3,98 \pm 0,13$ mm após a inserção da cauda com o corpo, sendo levemente arqueada, tendo largura quase uniforme ao longo de quase toda a cauda ($1,52 \pm 0,07$ mm no meio), sendo estreita somente no início e no fim; ponta da cauda acuminada; nadadeira ventral ($0,98 \pm 0,06$ mm no meio da cauda) mais estreita que a dorsal (Fig. 14: B).

Tabela 7. Medidas morfométricas obtidas de 17 girinos na localidade tipo [módulo M1 da BR-319 (Careiro Castanho, Amazonas)]. A descrição dos girinos foi pautada nos 12 girinos no estágio 36. Sigas dos caracteres definido em Material e Métodos e os estágios foram classificados segundo Gosner (1980).

Caracteres	Estágio 33 (n = 1)	Estágio 34 (n = 2)			Estágio 35 (n = 2)		Estágio 36 (n = 12)
TL	18,90	18,80	19,40	19,00	19,90	$21,47 \pm 0,47$ (21,47 – 22,50)	
BL	6,30	5,20	6,40	6,40	6,50	$6,69 \pm 0,14$ (6,50 – 7,00)	
TAL	12,60	12,60	13,00	12,60	13,40	$14,78 \pm 0,34$ (15,50 – 14,78)	
BW	4,30	4,30	4,45	4,40	4,60	$4,90 \pm 0,19$ (4,60 – 5,30)	
BH	2,50	2,00	2,50	2,55	2,55	$2,67 \pm 0,05$ (2,60 – 2,75)	
HWLE	3,80	3,80	4,00	4,00	4,20	$4,49 \pm 0,21$ (4,15 – 4,90)	
TMW	1,60	1,70	1,75	1,75	1,80	$2,06 \pm 0,11$ (1,90 – 2,15)	
MTH	3,45	3,70	3,90	3,85	3,90	$4,09 \pm 0,23$ (3,70 – 4,50)	
TMH	1,60	1,65	1,75	1,70	1,75	$1,96 \pm 0,13$ (1,75 – 2,20)	
IOD	1,00	1,00	1,05	1,00	1,00	$1,18 \pm 0,06$ (1,05 – 1,25)	
IND	0,95	0,95	1,00	0,95	1,00	$1,10 \pm 0,04$ (1,00 – 1,15)	
END	0,60	0,65	0,65	0,60	0,65	$0,71 \pm 0,04$ (0,65 – 0,80)	
NSD	0,40	0,40	0,45	0,40	0,45	$0,50 \pm 0,06$ (0,40 – 0,60)	
ED	0,80	0,85	0,90	0,85	1,00	$0,95 \pm 0,05$ (0,85 – 1,00)	
VTL	1,30,	1,30	1,30	1,30	1,35	$1,36 \pm 0,07$ (1,25 – 1,50)	
STL	0,35	0,35	0,40	0,45	0,45	$0,55 \pm 0,05$ (0,50 – 0,65)	
ODW	1,45	1,45	1,50	1,45	1,60	$1,58 \pm 0,06$ (1,50 – 1,70)	

Disco oral emarginado, localizado anteroventralmente (Fig.: 14: B; 15: B), largura média $1,58 \text{ mm} \pm 0,06$; lábio anterior com três ou quatro (sete indivíduos com três papilas e cinco com quatro) papilas triangulares e curtas, presentes nas margens laterais do lábio. Lábio posterior inteiramente margeado por uma fileira de 12 ou 14 (sete indivíduos com 12 papilas e cinco com 14) papilas triangulares, com tamanho semelhante na margem póstero-lateral e

pósterio-medial; ausência de papilas submarginais (Fig. 15: A). Mandíbula anterior em forma de arco e posterior em forma de V, ambas estreitas e serrilhas em toda sua extensão; fórmula dentária 2(2)/3(1); linha de dentes A-1 completa com $1,39 \pm 0,06$ mm de comprimento, linha de dentes A-2 interrompida medialmente, onde consiste de duas linhas com $0,51 \pm 0,05$ mm de comprimento cada, amplamente separadas ao nível da mandíbula anterior por um espaçamento de $0,53 \pm 0,03$ mm. Linhas de dentes posteriores P-1 e P-2 possuem o mesmo comprimento $1,36 \pm 0,08$ mm e fileira P-3 $1,06 \pm 0,07$ mm, sendo em média $78 \pm 1,3\%$ de P-1 e P-2. Alinha lateral não é visível nos girinos.

4.14 Cor de girinos preservados

A cor de fundo da superfície dorsal, lateral e anteroventral do corpo e músculo da cauda creme (Fig. 14); essas regiões são cobertas por manchas marrom-escuras irregulares, formadas pela agregação de melanóforos.

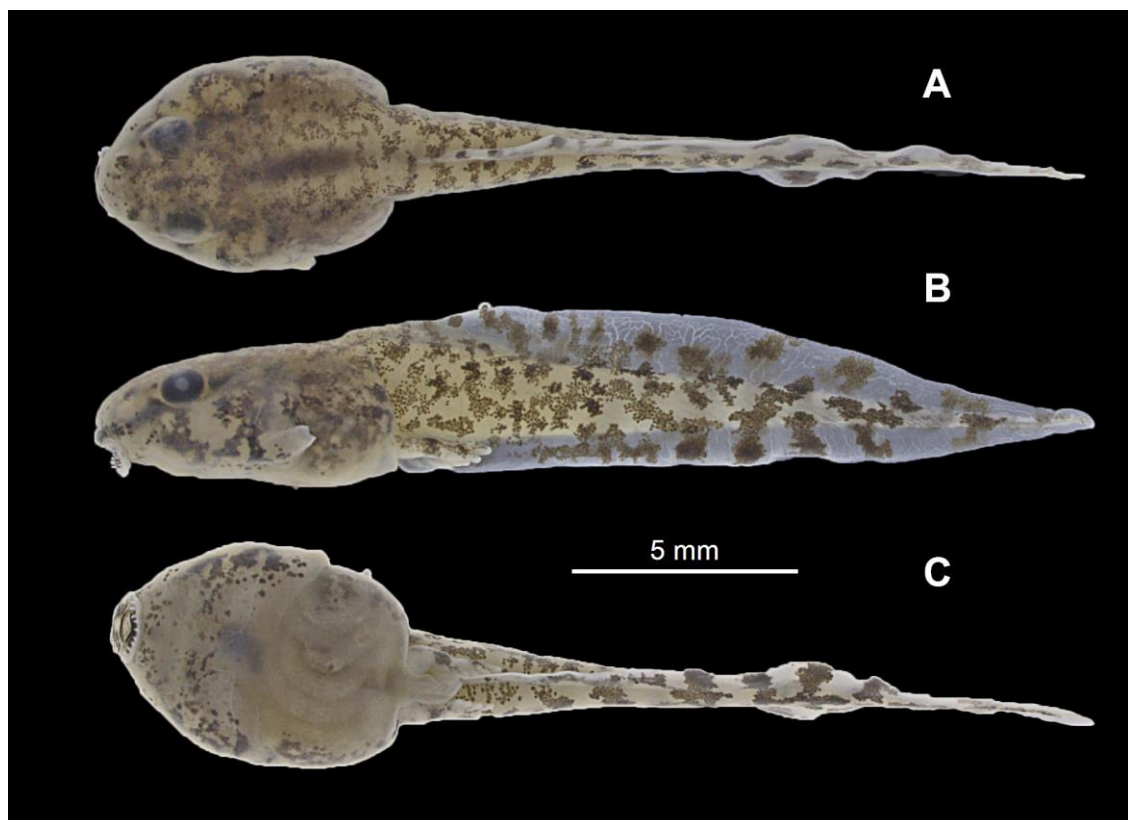


Figura 14. Girino de *Allobates* sp. nov., no estágio 36, (A) Vista dorsal, note o corpo ovalado, narinas amplamente espaçadas e pigmentadas, (B) vista lateral evidenciando o disco oral localizado anteroventralmente e o espiráculo localizado na porção central do corpo, (C) vista ventral, note o intestino enrolado ocultando outros órgãos. Fotos: Jeni Magnusson.

A região ventral é creme claro com poucos melanóforos espalhados pelo ventre e com manchas na lateral (Fig. 14: C); região posteroventral do corpo é translúcido permitindo a visualização do intestino. As nadadeiras são translúcidas com reticulação esbranquiçada e com aglomeração de melanóforos que formam manchas escuras irregulares (Fig. 14: B).

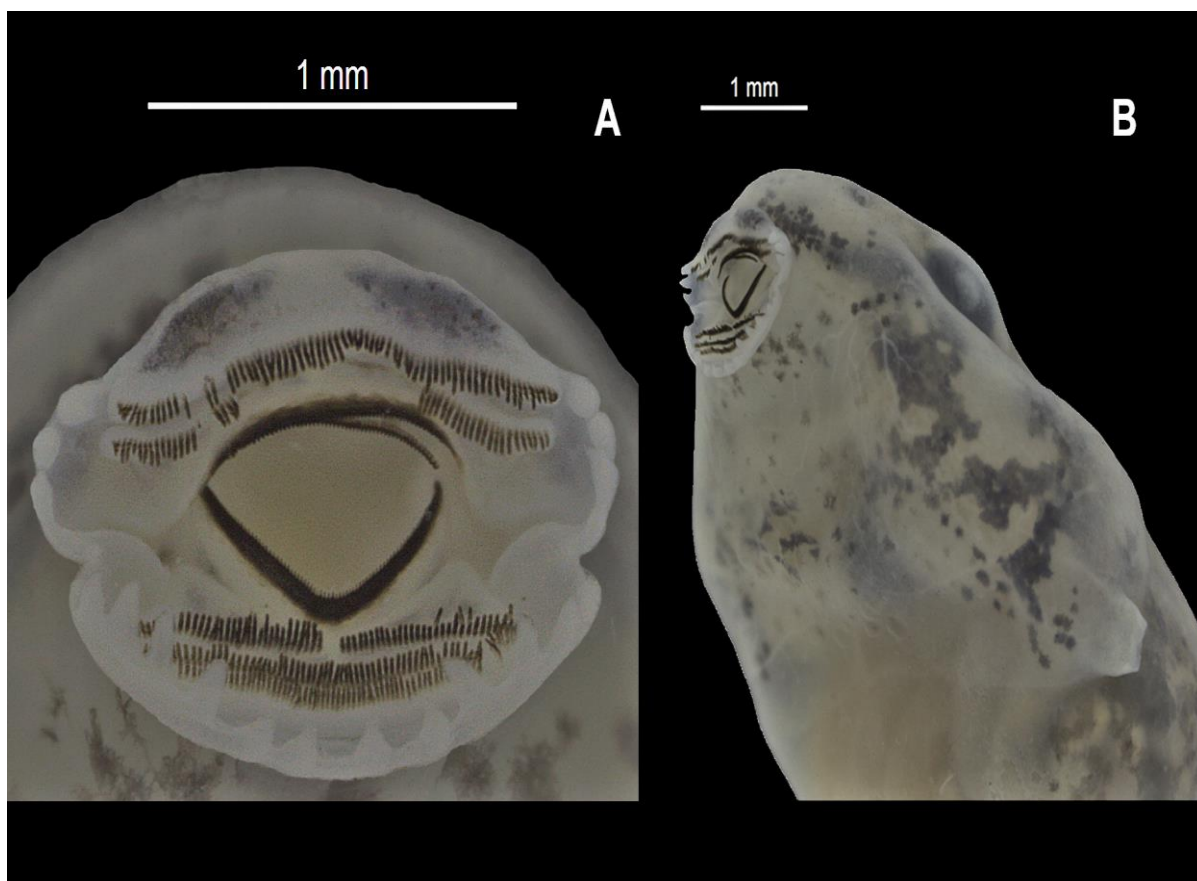


Figura 15. Disco oral do girino de *Allobates* sp. nov., no estágio 36, (A) visão ventral, com três papilas no lábio anterior e doze papilas no lábio posterior, a fileira de dentes anteriores A2 amplamente interrompida na região medial, a mandíbula anterior em forma de U e a posterior em forma de V, (B) visão anteroventral evidenciando as papilas posteriores e fileiras de dentes posteriores P1, P2 e P3. Fotos: Jeni Magnusson.

4.15 Cor dos girinos em vida

A superfície dorsal, lateral e anteroventral do corpo é marrom. O músculo da cauda de cor creme com nadadeiras translúcidas, com as superfícies dorsais e laterais cobertas por manchas marrom-escuras irregulares, formadas pela agregação de melanóforos. (Fig. 16).



Figura 16. Girinos em vida de *Allobates* sp. nov., no estágio 25. Note as superfícies dorsal, lateral e anteroventral de cor marrom, as nadadeiras são translúcidas. Nesse estágio são transportados pelo macho para poças temporárias no meio da floresta. Foto: A. P. Lima.

4.16 Comparação dos girinos com outras espécies

Os girinos de *A. granti* (Kok *et al.* 2006), *A. brunneus* (Lima *et al.* 2009), *A. paleovarzensis* (Lima *et al.* 2010), *A. sumtuosus* (Simões & Lima 2012), *A. magnussoni* (Lima *et al.* 2014), e *Allobates tapajos* (Lima *et al.* 2015) se diferenciam da nova espécie por possuírem a região posteroventral do corpo transparente, com órgãos visíveis (*Allobates* sp. nov. tem ventre translúcido, somente os intestinos são visíveis de forma difusa), além disso *A. granti* possui papilas curtas com pontas arredondadas (*Allobates* sp. nov. com papilas curtas com formato triangular). *A. subfolionidificans*, *A. brunneus*, *A. paleovarzensis*, *A. sumtuosus* e *A. magnussoni* possuem mais de cinco papilas em cada lado do lábio anterior e mais de 22 papilas no lábio posterior, todas curtas com pontas arredondadas (*Allobates* sp. nov. apresenta três ou quatro papilas curtas com formato triangular no lábio anterior e no máximo 14 papilas no lábio posterior). *Allobates tapajos* possui lábio anterior com quatro ou cinco papilas curtas e arredondadas e lábio posterior com papilas de diferentes comprimentos, todas com pontas arredondadas, tendo quatro a cinco papilas longas entre as papilas laterais e mediais do lábio posterior (*Allobates* sp. nov. possui papilas de tamanho igual nos lábios anteriores e posteriores com pontas triangulares).

Girinos de *Allobates* sp. nov. podem ser diferenciados facilmente de *A. caeruleodactylus* (Lima & Caldwell 2001), *A. marchesianus* (Caldwell *et al.* 2002) e *A. grillisimilis* (Simões *et al.* 2013) pela presença de papilas longas no lábio posterior; possuem barras escuras transversais na cauda (*Allobates* sp. nov. possui de três a quatro papilas curtas de cada lado do lábio anterior e não possui barras transversais na cauda). Os girinos de *Allobates nidicola* e *Allobates masniger* são endotróficos e se desenvolvem em ninho terrestre, sendo altamente especializados, não possuindo quaisquer estruturas do disco oral ou espiráculo (Caldwell & Lima 2003; APL, dados não publicados).

4.17 Descrição do canto de anúncio

O canto de anúncio de *Allobates* sp. nov. é formado por grupos de notas tonais de curta duração com modulação ascendente (Fig. 17: A). Os cantos têm duração média de $0.77 \text{ s} \pm 0.30$ (0.36–1.25 s) e são compostos por 5 ± 1 (3–7) notas com duração média de $0.041 \text{ s} \pm 0.004$ (0.029–0.054 s). A duração média do intervalo silencioso entre notas é de $0.15 \text{ s} \pm 0.03$ (0.10–0.23 s), sendo mais curto entre as duas primeiras notas [$0.12 \text{ s} \pm 0.01$ (0.10–0.15 s)] do que entre as duas últimas notas [$0.19 \text{ s} \pm 0.02$ (0.16–0.23 s)]. Frequências possuem intensidade semelhante ao longo das notas em cada canto: a média da frequência pico é $5635 \text{ Hz} \pm 209$ (5168–6008 Hz), a frequência baixa $5387 \text{ Hz} \pm 204$ (4849–5817 Hz) e a frequência alta é de $5829 \text{ Hz} \pm 191$ (5374–6206 Hz). Parâmetros temporais e espectrais estão detalhados na Tabela 8.

Tabela 8. Sumário dos parâmetros bioacústicos do canto de anúncio de *Allobates* sp. nov. e *Allobates tinae*. Valores correspondem a média e desvio padrão, seguidos pela variação (entre parênteses). * = valores extraídos de Melo-Sampaio *et al.* (2018).

Número tombo	Número de notas	Duração do canto	Duração da nota	Duração intervalo silencioso	Frequência de pico
<i>Allobates</i> sp. nov.					
APL 22172	3.8 ± 0.4 (3–4)	528 ± 72 (401–578)	0.042 ± 0.003 (0.038–0.049)	0.131 ± 0.023 (0.108–0.169)	5751 ± 90 (5542–5943)
APL 22173	3.6 ± 0.5 (3–4)	543 ± 104 (415–639)	0.044 ± 0.004 (0.037–0.049)	0.147 ± 0.029 (0.110–0.190)	5679 ± 55 (5577–5771)

APL 22174	6.4 ± 0.5 (6–7)	1068 ± 115 (975–1221)	0.044 ± 0.006 (0.037–0.054)	0.148 ± 0.024 (0.114–0.187)	5734 ± 135 (5556–6008)
APL 22175	5.4 ± 0.5 (5–6)	956 ± 126 (843–1113)	0.041 ± 0.004 (0.034–0.047)	0.174 ± 0.034 (0.121–0.223)	5841 ± 84 (5728–6008)
APL 22176	5.8 ± 0.8 (5–7)	930 ± 192 (741–1205)	0.040 ± 0.004 (0.035–0.046)	0.150 ± 0.033 (0.109–0.213)	5333 ± 92 (5168–5469)
APL 22177	6 ± 0.7 (5– 7)	1045 ± 142 (855–1255)	0.040 ± 0.003 (0.035–0.045)	0.169 ± 0.031 (0.129–0.225)	5468 ± 96 (5383–5642)
APL 22178	6 ± 0.7 (5– 7)	1046 ± 142 (853–1253)	0.040 ± 0.003 (0.035–0.046)	0.168 ± 0.032 (0.126–0.226)	5478 ± 102 (5383–5663)
APL 14061	3.2 ± 0.4 (3–4)	402 ± 67 (359– 519)	0.038 ± 0.004 (0.029–0.043)	0.128 ± 0.015 (0.101–0.147)	5584 ± 92 (5438–5719)
APL 14065	3	421 ± 26 (386– 459)	0.038 ± 0.002 (0.035–0.042)	0.153 ± 0.028 (0.117–0.189)	5847 ± 106 (5648–6000)
Total	5 ± 1 (3–7)	771 ± 296 (359–1255)	0.041 ± 0.004 (0.029–0.054)	0.154 ± 0.031 (0.101–0.226)	5635 ± 209 (5168–6008)

Allobates tinae

CENBAM 0406	8 ± 2 (5– 10)	1872 ± 415 (1195–2217)	0.070 ± 0.009 (0.055–0.076)	0.211 ± 0.094 (0.117–0.414)	5438 ± 186 (5233–5771)
CENBAM 0343	6 ± 2 (5–9)	1408 ± 415 (1040–2119)	0.058 ± 0.003 (0.056–0.063)	0.213 ± 0.072 (0.109–0.379)	5962 ± 202 (5535–6288)
CENBAM 0344	7 ± 1 (6–9)	1894 ± 425 (1994–2540)	0.056 ± 0.003 (0.054–0.058)	0.233 ± 0.078 (0.121–0.340)	5787 ± 153 (5513–6051)
APL 15731	8 ± 1 (6–9)	1835 ± 282 (1482–2128)	0.068 ± 0.003 (0.065–0.071)	0.215 ± 0.074 (0.125–0.332)	5533 ± 99 (5448–5663)
não coletado	12 ± 1 (11–13)	3337 ± 311 (2857–3702)	0.069 ± 0.003 (0.065–0.071)	0.225 ± 0.083 (0.135–0.397)	5424 ± 88 (5233–5513)
APL 21678	10 ± 1 (8– 11)	1814 ± 327 (1363–2060)	0.057 ± 0.003 (0.054–0.061)	0.162 ± 0.074 (0.087–0.303)	5685 ± 295 (5233–6029)
não coletado	7 ± 1 (6–8)	1568 ± 346 (1246–2106)	0.070 ± 0.006 (0.062–0.079)	0.197 ± 0.080 (0.099–0.333)	5517 ± 251 (5060–5879)
não coletado	6 ± 1 (5–8)	1162 ± 298 (854–1634)	0.057 ± 0.008 (0.048–0.069)	0.180 ± 0.053 (0.107–0.262)	5581 ± 197 (5125–5857)
MNRJ 90220 *	8	1766	0.058	0.189	4875
não coletado *	7 ± 2 (5–9)	1667	0.055	0.199	5250
Total	8 ± 2 (5– 13)	1847 ± 683 (854–3702)	0.059 ± 0.009 (0.042–0.079)	0.204 ± 0.077 (0.087–0.414)	5602 ± 269 (4875–6288)

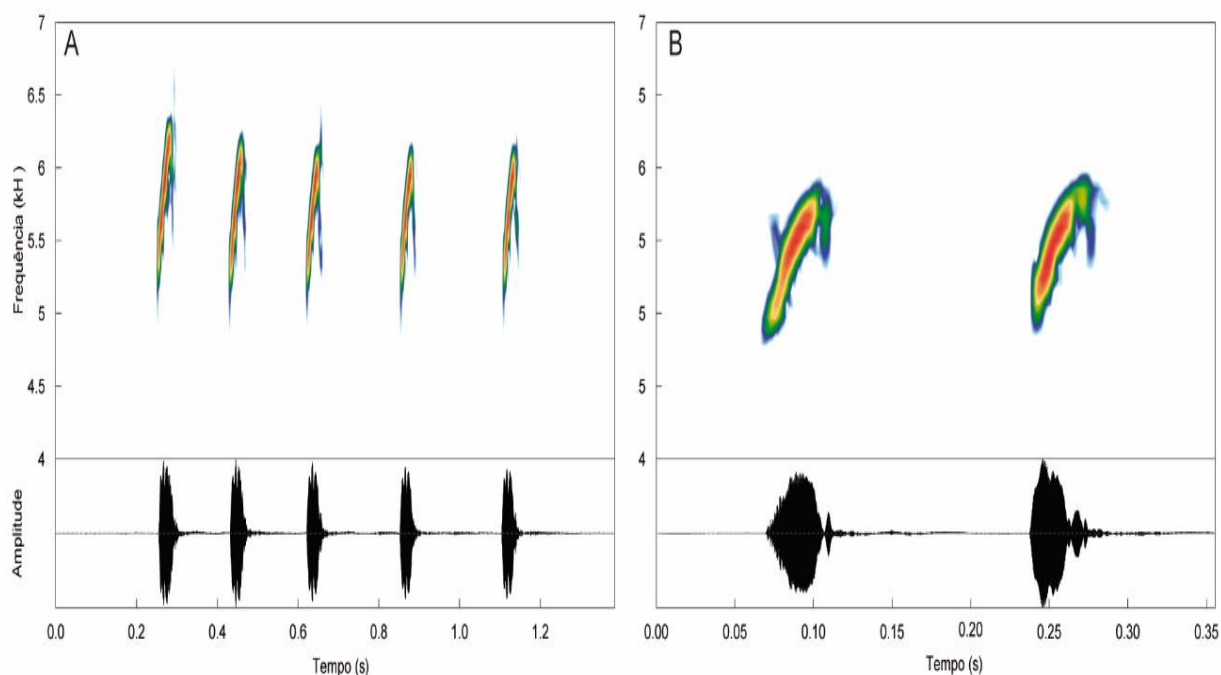


Figura 17. Canto de *Allobates* sp. nov. gravado na localidade-tipo, módulo de amostragem M1 da BR-319, município de Careiro Castanho, Amazonas. (A) Espectrograma e oscilograma do canto de anúncio composto por cinco notas: APL 22175, SVL = 15.2 mm, 24,8 °C. (B) Espectrograma e oscilograma do canto composto por duas notas, emitido fora do horário de atividade acústica: APL 22172, SVL = 16.4 mm, 24.8 °C.

4.18 Comparação do canto de anúncio com outras espécies

O arranjo temporal das notas no canto de anúncio de *Allobates* sp. nov. é do tipo emitido em grupos de notas (“trills ou bouts”), esse tipo de arranjo separa *Allobates* sp. nov. de espécie de *Allobates nidicola* (Caldwell & Lima 2003) *Allobates masniger* (Kaefer *et al.* 2012) *Allobates caeruleodactylus* (Lima & Caldwell 2001), *Allobates subfolionidificans* (Lima *et al.* 2007), *Allobates algorei* (Barrio-Amorós & Santos 2009) e *A. ofersioides* (Forti *et al.* 2017) que emitem canto de anúncio formado por uma única nota emitida de forma contínua. E de *Allobates magnussoni*, *A. flaviventris* e *A. tapajós* (Melo-Sampaio *et al.* 2013; Lima *et al.* 2014, 2015) por emitem mais frequentemente pares de notas.

Diferem de *Allobates paleovarzensis*, *A. crombiei*, *A. bacurau* e *A. juami* por esses emitirem cantos de anúncio do tipo multinotas, os quais são formados por mais de 11 notas simples emitidas em espaço de tempo menores que 0,11s (Lima *et al.* 2010, 2012; Simões 2016; Simões *et al.* 2018).

Diferem de *Allobates granti*, e *A. grillisimilis* por esses emitirem duas ou multinas notas pulsadas (Kok, *et al.* 2006; Simões *et al.* 2013).

Allobates marchesianus, *A. brunneus*, *A. sumtuosus* e *A. amissibilis* emitem arranjos de notas em grupo semelhante a *Allobates* sp. nov. (Caldwell *et al.* 2002; Lima *et al.* 2009; Simões *et al.* 2013b; Grant *et al.* 2017), porém possuem o intervalo silencioso entre as notas maiores que 0.023s e entre cantos maiores que 1.70s, enquanto *Allobates* sp. nov. possui intervalo silencioso entre notas com duração máxima de 0.023 s e entre cantos o tempo máximo é de 1.25s.

Allobates tinae é espécie irmã de *Allobates* sp. nov. e possuem comprimento rostro-cloacal semelhante por essa razão há alta sobreposição em média nos parâmetros espectrais do canto (Fig. 18).

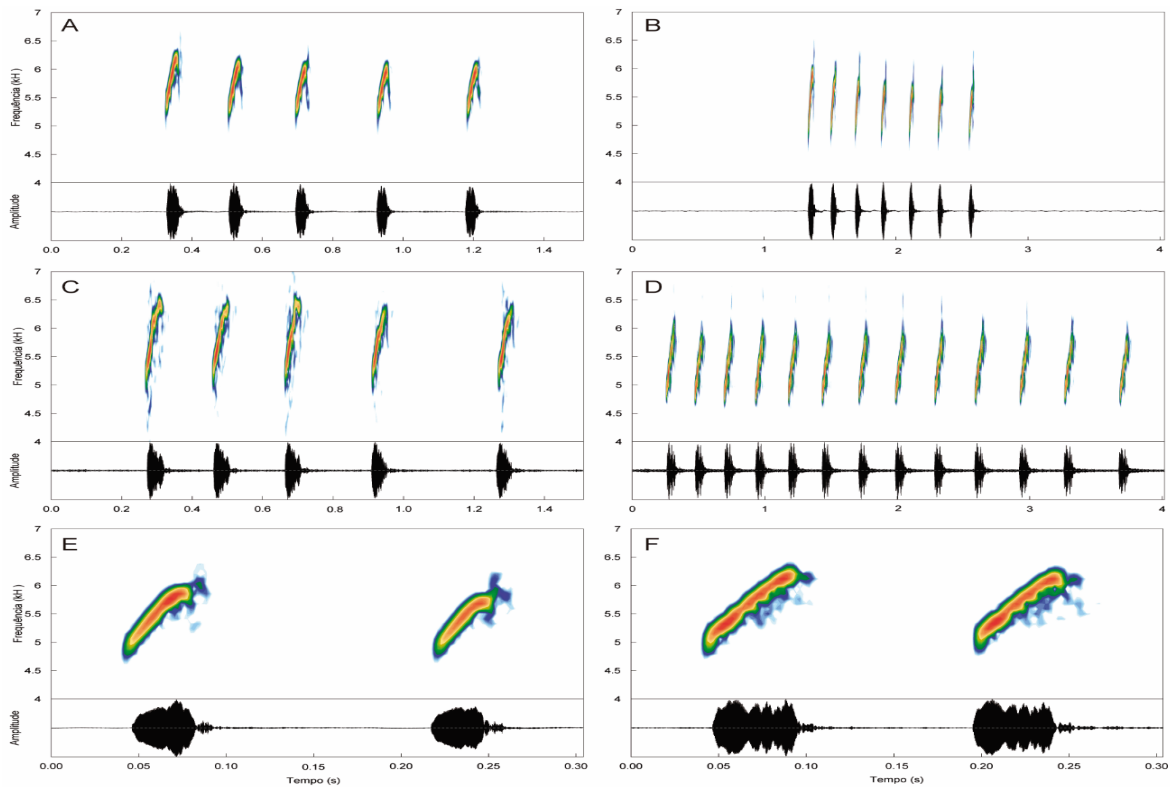


Figura 18. Canto de anúncio de *Allobates* sp. nov. (A, B, E) e *A. tinae* (C, D, F) do interflúvio Purus-Madeira. (A) Canto de anúncio composto por cinco notas: APL 22175, SVL = 15.2 mm, temperatura = 24.8 °C, localidade = M1 (Careiro da Várzea, Amazonas). (B) Canto composto pelo número máximo de notas (7) registrado para a *Allobates* sp. nov.: APL 22177, SVL = 16.2 mm, temperatura = 24.7 °C, localidade = M1 (Careiro da Várzea, Amazonas). (C) Canto de anúncio composto por cinco notas: não coletado, temperatura = 25.5 °C, localidade = Jirau Esquerdo (Porto Velho, Rondônia). (D) Canto composto pelo número máximo de notas (13) registrado para a *A. tinae*: APL 21678, SVL = 15.4, temperatura = 25.9 °C, localidade = Boca do Acre (margem direita do rio Purus, Acre). Zoom das duas primeiras notas que compõe o canto de anúncio do espécime APL 22177 (E) e do espécime APL 21678 (F).

Porém os cantos podem ser diferenciados em seus aspectos temporais. O canto de *Allobates* sp. nov. é em média mais curto 771 ± 296 ms (*A. tinae* 1847 ± 683), com menos notas 5 ± 1 (*A. tinae* 8 ± 2), menor intervalo entre notas 0.154 ± 0.031 (*A. tinae* 0.204 ± 0.077). As diferenças nos aspectos temporais do canto das duas espécies foram estatisticamente significantes, *Allobates* sp. nov. teve canto mais curto ($t = -5.14$, $df = 13.53$, $p = 0.0001$; Fig. 19: A), composto por menor número de notas ($t = -4.33$, $df = 16.63$, $p = 0.0004$; Fig. 19: B), notas mais curtas ($t = -8.77$, $df = 11.28$, $p < 0.0001$; Fig. 19: C;) e por apresentar intervalo silencioso entre notas menor ($t = -5.81$, $df = 16.53$, $p < 0.0001$; Fig. 19: D).

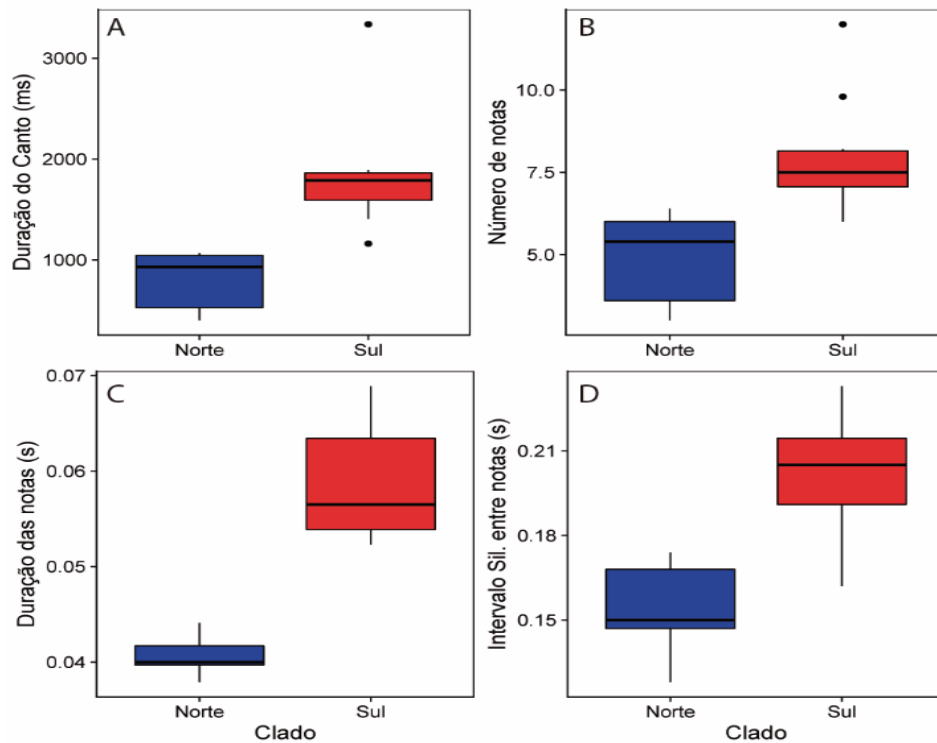


Figura 19. Diferença entre características temporais entre os clados. (A) Duração do canto, (B) número de notas, (C) duração das notas e (D) intervalo silencioso entre notas. Em azul clado Norte (*Allobates* sp. nov.), em vermelho clado Sul (*Allobates tinae*). Note que em todos os parâmetros o clado norte apresenta valores menores.

4.19 História natural

Allobates sp. nov. está distribuída ao longo do Interflúvio Purus-Madeira no Estado do Amazonas, habitando floresta de terra firme com fitofisionomia de floresta ombrófila densa na região ao norte do interflúvio Purus-Madeira (Fig. 1).

Assim como outras três espécies de *Allobates* da região, a temporada reprodutiva começa no início do período chuvoso em dezembro (sujeita a variação devido a sazonalidade climática) a maio. Os machos vocalizam frequentemente no começo da manhã entre 5:30 h e 9:30 h, retornando novamente entre 16:00 h e 18:30 h. Podem vocalizar o dia inteiro nos dias com chuva leve. Machos foram encontrados vocalizando em folhas sobre a serapilheira, em pequenos galhos ou sobre a vegetação a altura de até 40 cm do chão. Machos atraem as fêmeas para os ninhos onde ocorre o amplexo cefálico (Fig. 20: A); após um tempo de aproximadamente 5 min. o macho deixa o ninho (Fig. 20: B) e a fêmea permanece até a ovoposição (Fig. 20: C). Os ovos são depositados em uma gelatina transparente, em folhas enroladas, dobradas ou sobrepostas uma sobre a outra no chão da floresta, os ovos são pigmentados na porção superior e brancos na região inferior (Fig. 20: D). Os machos cuidam das desovas e transportam os girinos para a água (Fig. 20: E). Machos respondem a estímulos de Play Back, por essa razão, acredita-se que são territorialistas.



Figura 20. Comportamento reprodutivo da *Allobates* sp. nov. (A) Casal em amplexo (note que o amplexo é cefálico), (B) macho deixando o ninho após o amplexo, (C) fêmea logo após ter deixado os ovos, (D) característica dos ovos e gelatina da desova recém-posta, (E) macho transportando os girinos. Fotos: A. P. Lima.

5 DISCUSSÃO

O presente trabalho trouxe à tona questões recorrentes na taxonomia de anuros que contém clados de espécies crípticas com morfologia conservadora, comum no gênero *Allobates*, que torna sua taxonomia desafiadora (Lima *et al.* 2010) e complexa.

Os complexos crípticos de espécies de *Allobates* são subestimados nas terras baixas da Amazônia (Peloso 2010; Lima *et al.* 2014, 2015; Grant *et al.* 2017; Melo-Sampaio *et al.* 2018). Porém, o uso de acústica, morfologia comparada, genética e comportamento reprodutivo na diagnose de linhagens próximas é essencial para descrever novas espécies.

No estudo que culminou na descrição da espécie *A. tinae* (Melo-Sampaio *et al.* 2018), os autores sugeriram que esta espécie era amplamente distribuída na Amazônia ocidental brasileira, porém foram cautelosos ao usarem para a série-tipo somente indivíduos coletados em locais próximos da localidade-tipo, o município de Boca do Acre no Estado do Amazonas. Possivelmente, porque já tinham dúvidas que se tratava de uma única espécie, uma vez que a árvore filogenética sugeria possibilidades de pelo menos duas espécies.

Nossas análises filogenéticas, acústicas e morfológicas evidenciaram que *Allobates tinae* é um complexo críptico de espécies com possíveis quatro linhagens (clado Guajará-Mirim, clado *A. tinae* IPM Sul, clado de Tefé, clado IPM Norte, com bom suporte genético, distâncias genéticas de 4.1% entre o clado IPM Sul e Tefé, distância de 3.7% entre o clado IPM Sul e IPM Norte e a distância mais alta para o clado Guajará-Mirim de 4.7%, contudo, mais estudos são necessários para a confirmação de se tratar de espécies novas.

No presente estudo demonstramos através da morfologia, bioacústica e genética que os clados do IPM Norte e Sul, são espécies distintas. *Allobates* sp. nov. ocorre em floresta ombrófila fechada, ao norte do interflúvio Purus-Madeira, enquanto *A. tinae* habita floresta ombrófila aberta, ao sul do Interflúvio, sugerindo uma forte pressão ambiental na diferenciação das duas espécies, uma vez que não existem barreiras geográficas visíveis na região do Interflúvio.

Na região norte do IPM a espécie nova tem sobreposição geográfica com *A. caeruleodactylus*, *A. nidicola* e *A. paleovarzensis* (Lima & Caldwell 2001; Caldwell & Lima 2003; Lima *et al.* 2010) que possuem localidade-tipo no município do Castanho, no km 12 da estrada de Autazes no Estado do Amazonas. Nas localidades simpátricas, as espécies são facilmente diferenciadas por caracteres morfológicos, coloração em vida e vocalização: *A. caeruleodactylus* é a única espécie de *Allobates* conhecida por possui os dedos azuis celeste;

A. nidicola e *A. paleovarzensis* possuem tamanho maior (SVL > 18 cm) e saco vocal escuro. Os cantos de *Allobates caeruleodactylus* e *A. nidicola* são emissões continua de notas simples e *A. paleovarzensis* emite um canto de multinotas o que as difere de *Allobates* sp. nov. com canto em série de 3 a 7 notas.

A espécie nova descrita no presente estudo é a 20^a espécie do gênero descrita para a Amazônia brasileira, e com base na árvore filogenética de *Allobates tinae* e *Allobates* sp. nov. existem potencialmente mais três espécies candidatas esperando estudos mais aprofundados para diferenciá-las dentro do complexo de *Allobates tinae*.

6 CONCLUSÃO

Nesse estudo nós demostramos que utilizando diversos caracteres integrados é possível distinguir espécies fortemente similares. Que para separar espécies crípticas é necessário o emprego de bioacústica, genética e morfologia. Nosso estudo demonstrou que dados genéticos fornecem forte indícios de espécies candidatas e com emprego de multicaracteres é possível distinguir as espécies crípticas dentro de um complexo de espécies, como no caso de *Allobates tinae*. No presente estudo descrevemos uma dessas espécies, que ocorre em área de floresta Ombrófila densa na porção norte do IPM e sugerimos que há mais duas ou três espécies candidatas. Contudo, mais estudos são necessários para a comprovação dessa hipótese, pois nossos esforços se concentraram na descrição da espécie candidata que possuíamos todos os dados necessários para diferenciação das espécies. Sugerimos que para esse complexo de espécies seja incluso nas descrições dados comportamentais de reprodução e dos girinos.

7 MATERIAL SUPLEMENTAR

Apêndice

Táxons, vouchers e número de acesso GenBank das sequências utilizadas

Species	ID	Locality	Reference
<i>Allobates algorei</i>	TNHCFS5551	Tachira, Venezuela	Santos & Cannatella 2011
<i>Allobates amissibilis</i>	MTD47884	Iwokrama, Guyana	Fouquet et al. 2013
<i>Allobates bacurau</i>	INPAH35406	Manicoré, Amazonas, Brazil	Simões 2016
<i>Allobates caeruleodactylus</i>	MPEG13809	Castanho, Amazonas, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Allobates chalcopis</i>	Alca2	Montagne Pelee, Martinique	Fouquet et al. 2013
<i>Allobates crombiei</i>	APL13458	Altamira, Pará, Brazil	Simões et al. 2013
<i>Allobates femoralis</i>	LSUMZ17552	PE Guajará-Mirim, Rondônia, Brazil	Frost et al. 2006
<i>Allobates femoralis</i>	OMNH36070	Porto Walter, Acre, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Allobates femoralis</i>	QCAZ16484	Yasuni, Ecuador	Santos et al. 2003
<i>Allobates flaviventris</i>	ZFMK66794	Cobija, Bolivia	Vences et al. 2000
<i>Allobates flaviventris</i>	OMNH36958	PE Guajará-Mirim, Rondônia, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Allobates flaviventris</i>	APL14523	Jirau, Porto Velho, Rondônia, Brazil	Lima et al. 2014
<i>Allobates flaviventris</i>	APL15137	Jaci-Paraná, Porto Velho, Rondônia, Brazil	Lima et al. 2014
<i>Allobates flaviventris</i>	MTR25512	PN Serra dos Pacaás Novos, Rondônia, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates flaviventris</i>	MTR25600	PN Serra dos Pacaás Novos, Rondônia, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates flaviventris</i>	MTR25726	PN Serra dos Pacaás Novos, Rondônia, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates fratisenescus</i>	QCAZ54377	Morona Santiago, Ecuador	Grant et al. 2017
<i>Allobates gasconi</i>	APL14410	Eirunepé, Amazonas, Brazil	Lima et al. 2014
<i>Allobates gasconi</i>	APL14411	Eirunepé, Amazonas, Brazil	Lima et al. 2015
<i>Allobates gasconi</i>	APL14416	Eirunepé, Amazonas, Brazil	Lima et al. 2016
<i>Allobates gasconi</i>	MPEG13003	Rio Ituxi, Amazonas, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Allobates gasconi</i>	OMNH36636	Rio Ituxi, Amazonas, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Allobates gasconi</i>	MCP13630	Feijó, Acre, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates gasconi</i>	MNRJ90229	Boca do Acre, Amazonas, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates gasconi</i>	MNRJ90230	Boca do Acre, Amazonas, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates gasconi</i>	MNRJ 91665	Feijó, Acre, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates gasconi</i>	MNRJ91679	Rio Branco, Acre, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates gasconi</i>	MNRJ91681	Boca do Acre, Amazonas, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates gasconi</i>	MNRJ91682	Boca do Acre, Amazonas, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates gasconi</i>	MNRJ91683	Boca do Acre, Amazonas, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates gasconi</i>	MNRJ91684	Boca do Acre, Amazonas, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates granti</i>	MC206	Saul, French Guyana	Fouquet et al. 2012
<i>Allobates grillisimilis</i>	APL12747	Borba, Amazonas, Brazil	Simões et al. 2013
<i>Allobates hodli</i>	ABUE2189	Abunã, Porto Velho, Rondônia, Brazil	Simões et al. 2010
<i>Allobates humilis</i>	CVULA5690	Barinas, Venezuela	Santos et al. 2014

<i>Allobates insperatus</i>	QCAZ16533	Yasuni, Ecuador	Santos et al. 2003
<i>Allobates juanii</i>	ARA2394	Villavicencio, Meta, Ecuador	Grant et al. 2006
<i>Allobates juanii</i>	TNHCFS4978	Villavicencio, Meta, Ecuador	Santos & Cannatella 2011
<i>Allobates kingsburyi</i>	QCAZ16523	Rio Chicana, Zamora Chinchipe, Ecuador	Santos & Cannatella 2011
<i>Allobates magnussoni</i>	MPEG11923	Curua-Uma, Pará, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Allobates masniger</i>	APL12958	PN Amazônia, Pará, Brazil	Kaefer et al. 2013
<i>Allobates nidicola</i>	MPEG13821	Castanho, Amazonas, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Allobates niputidea</i>	MUJ3520	Magdalena, Caldas, Colombia	Grant et al. 2006
<i>Allobates olfersioides</i>	MRT6031	Sao José da Vitória	Grant et al. 2006
<i>Allobates olfersioides</i>	MNRJ79897	Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil	Grant et al. 2017
<i>Allobates ornatos</i>	MHNSM22863	Tarapoto, San Martin, Peru	Santos et al. 2009
<i>Allobates paleovarzensis</i>	INPAH29176	Lago Janauacá, Amazonas, Brazil	Kaefer et al. 2013
<i>Allobates pittieri</i>	EBRG3420	PN Pittier, Venezuela	Manzanilla et al. 2009
<i>Allobates subfolionidificans</i>	APL1691	Rio Branco, Acre, Brazil	Simões et al. 2013
<i>Allobates subfolionidificans</i>	APL1692	Rio Branco, Acre, Brazil	Simões et al. 2013
<i>Allobates subfolionidificans</i>	MPEG12321	Porto Walter, Acre, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Allobates subfolionidificans</i>	OMNH35997	Porto Walter, Acre, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Allobates sumtuosus</i>	MTD477	Mabura Hill, Guyana	Fouquet et al. 2013
<i>Allobates talamancae</i>	SIUC7667	El Cope, Panama	Grant et al. 2006
<i>Allobates talamancae</i>	QCAZ16549	Carchi, Ecuador	Santos & Cannatella 2011
<i>Allobates tapajos</i>	LSUMZ15176	Curua-Uma, Pará, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Allobates</i> sp. nov.	MPEG13826	km 12 da AM-254, Careiro da Varzea, Amazonas, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Allobates</i> sp. nov.	MPEG13827	km 12 da AM-254, Careiro da Varzea, Amazonas, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Allobates</i> sp. nov.	APL 14066	km 12 da AM-254, Careiro da Varzea, Amazonas, Brazil	Presente estudo
<i>Allobates</i> sp. nov.	APL 14067	km 12 da AM-254, Careiro da Varzea, Amazonas, Brazil	Presente estudo
<i>Allobates</i> sp. nov.	APL 18655	módulo M1, Careiro da Varzea, Amazonas, Brasil	Presente estudo
<i>Allobates</i> sp. nov.	APL 18656	módulo M1, Careiro da Varzea, Amazonas, Brasil	Presente estudo
<i>Allobates tinae</i>	MPEG13397	PE Guajará-Mirim, Rondônia, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Allobates tinae</i>	MPEG12978	Rio Ituxi, Amazonas, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Allobates tinae</i>	MNRJ90214	Boca do Acre, Amazonas, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates tinae</i>	MNRJ90215	Boca do Acre, Amazonas, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates tinae</i>	APL17078	Tefé, Amazonas, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates tinae</i>	APL17081	Tefé, Amazonas, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates tinae</i>	APL17082	Tefé, Amazonas, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2019
<i>Allobates tinae</i>	APL14605	Módulo Jirau Esquerdo, Porto Velho, Rondônia, Brasil	Presente estudo
<i>Allobates tinae</i>	APL14601	Módulo Jirau Esquerdo, Porto Velho, Rondônia, Brasil	Presente estudo
<i>Allobates tinae</i>	APL16507	Módulo Teotônio, Porto Velho, Rondônia, Brasil	Presente estudo
<i>Allobates trilineatus</i>	KU215172	Cusco Amazonico, Madre de Dios, Peru	Grant et al. 2006
<i>Allobates trilineatus</i>	MJH7477	Panguana, Peru	Grant et al. 2006
<i>Allobates trilineatus</i>	MPEG12356	Porto Walter, Acre, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Allobates trilineatus</i>	MCP13618	Mâncio Lima, Acre, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates trilineatus</i>	MCP13628	Envira, Amazonas, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018

<i>Allobates trilineatus</i>	MCP13639	Mâncio Lima, Acre, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates trilineatus</i>	MNRJ91663	Envira, Amazonas, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates trilineatus</i>	MNRJ91664	Envira, Amazonas, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates trilineatus</i>	MNRJ91666	Feijó, Acre, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates trilineatus</i>	MNRJ91668	Tarauacá, Acre, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates trilineatus</i>	MNRJ91676	Rio Branco, Acre, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates trilineatus</i>	MTR28420	PN Serra do Divisor, Acre, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates trilineatus</i>	MTR28494	PN Serra do Divisor, Acre, Brazil	Melo-Sampaio et al. 2018
<i>Allobates undulatus</i>	AMNHA159139	Cerro Yutaje, Amazonas, Venezuela	Frost et al. 2006
<i>Allobates zaparo</i>	QCAZ16603	Jatun Sacha, Napo, Ecuador	Santos & Cannatella 2011
<i>Allobates zaparo</i>	USNM546405	Coca, Ecuador	Grant et al. 2006
<i>Anomaloglossus stepheni</i>	MJH3928	Reserva Ducke, Manaus, Amazonas, Brazil	Grant et al. 2006
<i>Aromobates nocturnus</i>	AMNHA130041	Agua de Obispos	Grant et al. 2006
<i>Mannophryne collaris</i>	TNHCFS5507	El Estanquillo, Merida, Venezuela	Santos & Cannatella 2011
<i>Rheobates palmatus</i>	MUJ5003	La Mesa, Colombia	Grant et al. 2006

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Altig, R., McDiarmid, R.W. (1999) Body plan: development and morphology. In: McDiarmid, R.W. & Altig, R. (Eds.), *Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae*. University of Chicago Press, Chicago, pp. 24–51.
- Angulo, A., Reichle, S. (2008) Acoustic signals, species diagnosis, and species concepts: the case of a new cryptic species of *Leptodactylus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from the Chapare region, Bolivia. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 152:59–77. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2007.00338.x>.
- Anganoy-Criollo, M.A. (2012) A new species of *Allobates* (Anura, Dendrobatidae) from the western flank of the Serranía de Perijá, Colombia. *Zootaxa*, 3308: 49–62.
- Barrio-Amorós, C.L., Santos, J.C. (2009) Description of a new *Allobates* (Anura, Dendrobatidae) from the eastern Andean piedmont, Venezuela. *Phyllomedusa*, 8, 89–104. <https://doi.org/10.11606/issn.2316-9079.v8i2p89-104>
- Bioacoustics Research Program. (2014). Raven Pro: Interactive Sound Analysis Software (Version 1.5) [Computer software]. Ithaca, NY: The Cornell Lab of Ornithology. Available from <http://www.birds.cornell.edu/raven>.
- Boulenger, G.A. (1884) On a collection of frogs from Yurimaguas, Huallaga River, Northern Peru. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 1883, 635–638.
- Boulenger, G.A. (1918) Descriptions of new South American batrachians. *Annals and Magazine of Natural History*, Series 9, 427–433.
- Bossuyt, F., Milinkovitch, M.C. (2000) Convergent adaptive radiations in Madagascan and Asian ranid frogs reveal covariation between larval and adult traits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 6585–6590.
- Breiman, L. (1996) Bagging predictors. *Machine Learning*, 24(2):123–140.
- Caldwell, J.P., Lima, A.P. & Keller, C. (2002) Redescription of *Colostethus marchesianus* (Melin, 1941) from its type locality. *Copeia*, 2002, 157–165. [https://doi.org/10.1643/0045-8511\(2002\)002\[0157:ROCMMF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1643/0045-8511(2002)002[0157:ROCMMF]2.0.CO;2)
- Caldwell, J.P. & Lima, A.P. (2003) A new Amazonian species of *Colostethus* (Anura: Dendrobatidae) with a nidicolous tadpole. *Herpetologica*, 59, 219–234. [https://doi.org/10.1655/0018-0831\(2003\)059\[0219:ANASOC\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1655/0018-0831(2003)059[0219:ANASOC]2.0.CO;2).

- Caminer, M.A., Ron, S.R. (2014) Systematics of treefrogs of the *Hypsiboas calcaratus* and *Hypsiboas fasciatus* species complex (Anura, Hylidae) with the description of four new species. *ZooKeys* 370: 1–68. <https://doi.org/10.3897/zookeys.370.6291>.
- Carstens, B., Pelletier, T., Reid, N., Satler, J. (2013) How to fail at species delimitation. *Molecular Ecology*, 22:4369–4383. <https://doi.org/10.1111/mec.12413>.
- Charif, R.A., Clark, C.W. & Frisrup, K.M. (2004) *Raven 1.2 User's Manual*. Cornell Laboratory of Ornithology, Ithaca, NY. 91 pp.
- Chiari, Y., Vences, M., Vieites, D.R., Rabemananjara, F., Bora, P., Ravoahangimalala, O.R., Meyer, A. (2004) New evidence for parallel evolution of colour patterns in Malagasy poison frogs (*Mantella*). *Molecular Ecology*, 13, 3763–3774. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02367.x>
- Cope, E.D. (1875) On the Batrachia and Reptilia of Costa Rica. *Journal of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*. Series 2, 8: 93–154.
- Cope, E.D. (1887) Synopsis of the Batrachia and Reptilia obtained by H. H. Smith, in the Province of Mato Grosso, Brazil. *Proceedings of the American Philosophical Society*, 24, 44–60.
- Cornils, A., Held, C. (2014) Evidence of cryptic and pseudocryptic speciation in the *Paracalanus parvus* species complex (Crustacea, Copepoda, Calanoida). *Frontiers in Zoology*, 11:1–17. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-11-19>
- Dayrat, B. (2005) Towards integrative taxonomy. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85(3), 407–415.
- Elmer, K.R.; Cannatella, D.C. (2008) Three new species of leaf litter frogs from the upper Amazon forests: cryptic diversity within *Pristimantis "ockendeni"* (Anura: Strabomantidae) in Ecuador. *Zootaxa* 38, 11–38.
- Ferrão, M., Colatreli, O., 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(11), e0165-679. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165679>
- Ferrão, M., Moravec, J., Fraga R, Almeida, A.P., Kaefer, I.L., Lima, A.P. (2017) A new species of *Scinax* from the Purus-Madeira interfluvium, Brazilian Amazonia (Anura, Hylidae). *ZooKeys* 706: 137–162. <https://doi.org/10.3897/zookeys.706.14691>

Ferrão, M., Fraga, Rd., Moravec, J., Kaefer. I.L., Lima, A.P. (2018) A new species of Amazonian snouted treefrog (Hylidae: *Scinax*) with description of a novel species-habitat association for an aquatic breeding frog. PeerJ 6:e4321 <https://doi.org/10.7717/peerj.4321>

Forti, L.R., Silva, A.T.R., Toledo, L.F. (2017) The acoustic repertoire of the Atlantic Forest Rocket Frog and its consequences for taxonomy and conservation (*Allobates*: Aromobatidae). *ZooKeys* 692: 141–153.

Foden, W.B., Butchart, S.H., Stuart, S.N., Vie, J.C., Akcakaya. H.R., Angulo, A., Devantier, L.M., Gutsche, A., Turak, E., Cao, L., Donner, S.D., Katariya, V., Bernard, R., Holland, R.A., Hughes, A.F., O'Hanlon, S.E., Garnett, S.T., Sekercioglu, C.H., Mace, G.M. (2013) Identifying the World's most climate change vulnerable species: a systematic trait-based assessment of all birds, amphibians and corals. *PLoS One*, 8: e65427. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065427>

Fouquet, A., Vences, M., Salducci, M.D., Meyer, A., Marty, C., Blanc, M., Gilles, A. (2007) Revealing cryptic diversity using molecular phylogenetics and phylogeography in frogs of the *Scinax ruber* and *Rhinella margaritifera* species groups. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 43 (2), 567–582.

Fouquet, A., Loebmann, D., Castroviejo-Fisher, S., Padial JM, Orrico VGD, Lyra ML, Rodrigues, M.T. (2012a) From Amazonia to the Atlantic forest: Molecular phylogeny of Phyzelaphryninae frogs reveals unexpected diversity and a striking biogeographic pattern emphasizing conservation challenges. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 65 (2): 547-561.n. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.07.012>

Fouquet, A., Noonan, B.P., Rodrigues, M.T., Pech, N., Gilles, A., Gemmell, N.J. (2012b) Multiple quaternary refugia in the Eastern Guiana Shield revealed by comparative phylogeography of 12 frog species. *Systematic Biology*, 61, 461–489. <http://dx.doi.org/10.1093/sysbio/syr130>

Fouquet, A., Cassini, C.S., Haddad C.F.B., Pech, N., Rodrigues, M.T. (2013a) Species delimitation, patterns of diversification and historical biogeography of the Neotropical frog genus *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae). *Journal of Biogeography* 41(5): 855-870. <https://doi.org/10.1111/jbi.12250>

Fouquet, A., Pineau, K., Rodrigues, M.T., Mailles, J., Schneider, J.B., Ernst, R., Dewynter, M. (2013b) Endemic or exotic: the phylogenetic position of the Martinique Volcano Frog *Allobates chalcopis* (Anura: Dendrobatidae) sheds light on its origin and challenges current conservation strategies. *Systematics and Biodiversity*, 11: 87-101. <https://doi.org/10.1080/14772000.2013.764944>

Frost, D.R. (2018) Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0 Available at: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html> (accessed 28 August 2018).

Gaston, K.J., Williams, P.H. (1996) Spatial patterns in taxonomic diversity. In: Gaston, K.J. (Ed.), *Biodiversity: A Biology of Numbers and DiVerence*. Blackwell Science, pp. 202–229.

Gehara, M., Crawford, A.J., Orrico, V.G.D., Rodríguez, A., Lötters, S., Fouquet, A., Barrientos, L.S., Brusquetti, F., De La Riva, I., Ernst, R., Urrutia, G.G., Glaw, F., Guayasamin, J.M., Hölting, M., Jansen, M., Kok, P.J.R., Kwet, A., Lingnau, R., Lyra, M., Moravec, J., Pombal, J.P., Rojas Runjaic, F.J.M., Schulze, A., Señaris, J.C., Solé, M., Rodrigues, M.T., Twomey, E., Haddad, C.F.B., Vences, M., Köhler, J. (2014) High levels of diversity uncovered in a widespread nominal *taxon*: continental phylogeography of the neotropical tree frog *Dendropsophus minutus*. *PLOS ONE*, 9:e103-958. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103958>

Gosner, K.L. (1980) A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 16, 183–190.

Grant, T. & Rodríguez, L.O. (2001) Two New Species of Frogs of the Genus *Colostethus* (Dendrobatidae) from Peru and a Redescription of *C. trilineatus* (Boulenger, 1883). *American Museum Novitates*, 3355, 1–24. [https://doi.org/10.1206/0003-0082\(2001\)355<0001:TNSOFO>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1206/0003-0082(2001)355<0001:TNSOFO>2.0.CO;2).

Grant, T., Frost, D.R., Caldwell, J.P., Gagliardo, R., Haddad, C.F.B., Kok, P.J.R., Means, B.D., Noonan, B.P., Schargel, W., Wheeler, W.C. (2006) Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Anura: Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 299, 1–262. [https://doi.org/10.1206/0003-0090\(2006\)299\[1:PSODFA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1206/0003-0090(2006)299[1:PSODFA]2.0.CO;2)

Grant, T., A.R., Acosta-Galvis, M. Rada. 2007. A name for the species of *Allobates* (Anura: Dendrobatoidea: Aromobatidae) from the Magdalena Valley of Colombia. *Copeia*, 2007: 844–854. [https://doi.org/10.1643/0045-8511\(2007\)7\[844:anftso\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1643/0045-8511(2007)7[844:anftso]2.0.CO;2)

Grant, T., Rada, M., Anganoy-Criollo, M.A., Batista, A., Dias, P.H. Jeckel, A.M., Machado, D.J., Rueda-Almonacid, J.V. (2017) Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives revisited (Anura: Dendrobatoidea). *South American Journal of Herpetology*, 12, 1–90. <https://doi.org/10.2994/SAJH-D-17-00017.1>

Gravena, W., Farias, I.P., da Silva V.M.F., Hrbek, T. (2014). Living between rapids: genetic structure and hybridization in the pink river dolphins. *Biological Journal of the Linnean Society*.

Guarnizo, C.E., Werneck, F.P., Giugliano, L.G., Santos, M.G., Fenker, J., Sousa, L., Colli, G.R. (2016). Cryptic lineages and diversification of an endemic anole lizard (Squamata, Dactyloidae) of the Cerrado hotspot. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 94, 279–289. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.09.005>

Guindon, S., Dufayard, J.F., Lefort, V., Anisimova, M., Hordijk, W., Gascuel, O. (2010) New algorithms and methods to estimate maximum likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology* 59:307–321.

Hall, T.A. (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser.* 41: 95-98.

IBGE. (2012) Manual técnico da vegetação brasileira: sistema fitogeográfico, inventário das formações florestais e campestres, técnicas e manejo de coleções botânicas, procedimentos para mapeamentos. 2a ed. IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro, 275p.

Jenkins C, Pimm S, Joppa L. (2013) Global patterns of the terrestrial vertebrates diversity and conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110:e2602–E2610. <https://doi.org/10.1073/pnas>.

Jombart, T. (2008) Adegnet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics* 24: 1403-1405.

Jombart, T., Devillard, S., Balloux, F. (2010) Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics* 11(1), 94. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>

Jombart, T., Ahmed, I. (2011) adegenet 1.3-1: new tools for the analysis of genome-wide SNP data. *Bioinformatics*, 27(21): 3070-3071.

Kaefer, I.L., Tsuji-Nishikido, B.M., Lima, A.P. (2012) Beyond the river: underlying determinants of population acoustic signal variability in Amazonian direct-developing *Allobates* (Anura: Dendrobatoidea) *Acta Ethologica*. 15: 187. <https://doi.org/10.1007/s10211-012-0126-0>

Kaefer, I.L., Tsuji-Nishikido, B.M., Mota, E.P., Farias, I.P., Lima, A.P. (2013) The early stages of speciation in Amazonian forest frogs: phenotypic conservatism despite strong genetic structure. *Evolutionary Biology* 40:228–245 <https://doi.org/10.1007/s11692012-9205-4>

Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Meintjes, P., Drummond, A.

(2012) Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28: 1647–1649. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>

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.

Kok, P.J.R., MacCulloch, R.D., Gaucher, P., Poelman, E.H., Bourne, G. R., Lathrop, A., Lenglet, G.L. (2006) A new species of *Colostethus* (Anura, Dendrobatidae) from French Guiana with a redescription of *Colostethus beebei* (Noble, 1923) from its type locality. *Phyllomedusa*, 5, 43–66. <https://doi.org/10.11606/issn.2316-9079.v5i1p43-66>.

Kok, P.J.R., Hölting, M., Ernst, R. (2013) A third microendemic to the Iwokrama Mountains of central Guyana: a new “cryptic” species of *Allobates* Zimmerman and Zimmerman, 1988 (Anura: Aromobatidae). *Organisms, Diversity & Evolution*, 13, 621–638. <https://doi.org/10.1007/s13127-013-0144-4>

Lanfear, R., Frandsen, P.B., Wright, A.M., Senfeld, T., Calcott, B. (2016) PartitionFinder 2: New methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution* 34:772–773.

Liaw, A., Wiener, M. 2001 Classification and Regression by randomForest. *R News* 2, 18–22.

Lima, A.P., Caldwell, J.P. (2001) A new Amazonian species of *Colostethus* with sky blue digits. *Herpetologica*, 57, 133–138. <http://www.jstor.org/stable/3893182>

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*, 2007, 114–122. [https://doi.org/10.1643/0045-8511\(2007\)7\[114:ANASOT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1643/0045-8511(2007)7[114:ANASOT]2.0.CO;2)

Lima, A.P., Caldwell, J.P., Strussmann, C. (2009) Redescription of *Allobates brunneus* (Cope) 1887 (Anura: Aromobatidae: Allobatinae), with a description of the tadpole, call, and reproductive behavior. *Zootaxa*, 1988, 1–16.

Lima, A.P., Caldwell, J.P., Biavati, G., Montanarin, A. (2010) A new species of *Allobates* (Anura: Aromobatidae) from Paleovárzea Forest in Amazonas, Brazil. *Zootaxa*, 2337, 1–17.

Lima, A.P., Erdtmann, L.K., Amézquita, A. (2012) Advertisement call and colour in life of *Allobates crombiei* (Morales) “2000” [2002] (Anura: Aromobatidae) from the type locality (Cachoeira do Espelho), Xingu River, Brazil. *Zootaxa*, 3475, 86–88

- 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 (3), 355–387. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3889.3.2>
- Lima, A.P., Simões, P.I., Kaefer, I.L. (2015) A new species of *Allobates* (Anura: Aromobatidae) from Parque Nacional da Amazônia, Pará State, Brazil. *Zootaxa*, 3980 (4), 501–525. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3980.4.3>
- Lutz, A. (1925) Batraciens du Brésil. *Comptes Rendus et Mémoires Hebdomadaires des Séances de la Société de Biologie et des ses Filiales*, Paris, 93, 137–139.
- Maddison, W.P. & Maddison, D.R. (2015) Mesquite: A Modular System for Evolutionary Analysis. Version 3.04. (<http://mesquiteproject.org>).
- Maia, G.F., Lima, A.P., Kaefer, I.L. (2017). Not just the river: genes, shapes, and sounds reveal population-structured diversification in the Amazonian frog *Allobates tapajos* (Dendrobatoidea). *Biological Journal of the Linnean Society*, 121(1): 95–108.
- Manzanilla, J., LaMarca, E., Garcia-Paris, M. (2009) Phylogenetic patterns of diversification in a clade of Neotropical frogs (Anura: Aromobatidae: *Mannophryne*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 97(1): 185–199. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2009.01074.x>
- Melo-Sampaio, P.R., Souza, M.B., Peloso, P.L.V. (2013) A new, riparian, species of *Allobates* Zimmermann and Zimmermann, 1988 (Anura: Aromobatidae) from southwestern Amazonia. *Zootaxa*, 3716 (3), 336–348. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3716.3.2>
- Melo-Sampaio, P. R., Oliveira, R.M., 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. <http://doi.org/10.2994/SAJH-D-17-00098.1>
- Melin, D.E. (1941) Contributions to the knowledge of the Amphibia of South America. Göteborgs Kungl. Vetenskaps-och Vitterhets-samhälles. Handlingar. Serien B, Matematiska och Naturvetenskapliga Skrifter, 1, 1–71.
- Miller, M.A., Pfeiffer, W., Schwartz, T. (2010) "Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees" in Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE), 14 Nov. 2010, New Orleans, LA pp 1 - 8.
- Morales, V.C. (2002) Sistemática y biogeografía del grupo *trilineatus* (Amphibia, Anura, Dendrobatidae, *Colostethus*), con descripción de once especies nuevas. *Publicaciones de La Asociación de Amigos de Doñana*, 13, 1–59.

- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Da Fonseca, G.A.B., Kent, J. (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853–858.
- Padial, J.M., De La Riva, I. (2009) Integrative taxonomy reveals cryptic Amazonian species of *Pristimantis* (Anura: Strabomantidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 155:97–122 <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2008.00424.x>
- Padial, J. M., Miralles, A., De la Riva, I., Vences, M. (2010) The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, 2010, 7–16. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-7-16>.
- Palumbi, S.R. (1996) Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. In: Hillis DM, Moritz, C., Mable, B.K, eds. *Molecular systematics*. Sunderland, MA: Sinauer & Associates Inc, 205–247.
- Peloso, P.L.V. (2010) A safe place for amphibians? A cautionary tale on the taxonomy and conservation of frogs, caecilians and salamanders in the Brazilian Amazonia. *Zoologia*, 27, 667–673. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702010000500001>
- Pyburn, W.F. (1981) A new poison-dart frog (Anura: Dendrobatidae) from the forest of southeastern Colombia. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 94, 67–75.
- Rambaut, A., Drummond, A.J., Xie, D., Baele, G., Suchard, M.A. (2018) Posterior summarisation in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*. syy032. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>
- Rojas, R.R., Fouquet, A., Ron, R.S., Hernández-Ruz, J.E., Melo-Sampaio, P.R., Chaparro, C.J., Vogt, C.R., Carvalho, T.V., Pinheiro C.L., Avila, W.R., Farias, P.I., Gordo, M., Hrbek, T. (2018) A Pan-Amazonian species delimitation: high species diversity within the genus *Amazophrynella* (Anura: Bufonidae). *PeerJ* 6:e4941. <https://doi.org/10.7717/peerj.4941>
- Ronquist, F., Teslenko, M., Van Der Mark, P., Ayres, D.L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M.A., Huelsenbeck, J.P. (2012) MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61:539–542. <https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- R Core Team (2017). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Rossetti, D.F., Toledo, P.M., Góes, A.M. (2005) New geological framework for Western Amazonia (Brazil) and implications for biogeography and evolution. *Quaternary Research* 63:78–89. <https://doi.org/10.1016/j.yqres.2004.10.001>

Rowley, J.J.L., Tran, D.T.A., Frankham, G.J., Dekker, A.H., Le, D., Nguyen, T.Q., Dau, V.Q., Hoang, H.D. (2015) Undiagnosed cryptic diversity in small, microendemic frogs Sambrook, J., Fritsch, E.F., Maniatis, T. 1989. *In: Molecular cloning: a laboratory manual*. Second Edition. Cold Springs Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Sanchez, D.A. (2013) Larval morphology of Dart-Poison Frogs (Anura: Dendrobatoidea: Aromobatidae and Dendrobatidae). *Zootaxa*, 3637, 569–591.

Santos, J.C., Coloma, L.A., Cannatella, D.C. (2003) Multiple, recurring origins of aposematism and diet specialization in poison frogs. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100 (22): 12792-12797.

Santos, J.C., Coloma, L.A., Summers, K., Caldwell, J.P., Ree, R., Cannatella, D.C. (2009) Amazonian amphibian diversity is primarily derived from late Miocene Andean lineages. *PLOS Biology*, 7:0448–0461 <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000056>

Santos, J.C., Baquero, M., Barrio-Amorós C. (2014) Aposematism increases acoustic diversification and speciation in poison frogs. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1796):20141761. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.1761>

Silva, J., M.C., Straube, F.C. (1996) Systematics and biogeography of scaled woodcreepers (Aves: Dendrocolaptidae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 31, 3 – 10.

Silverstone, P.A. (1976) A revision of the poison-arrow frogs of the genus *Phyllobates* Bibron in Sagra (Family Dendrobatidae). *Science Bulletin. Natural History Museum of Los Angeles County* 27: 1–53.

Simões, P.I., Lima, A.P., Farias, I.P. (2010) The description of a cryptic species related to the pan-Amazonian frog *Allobates femoralis* (Boulenger 1883) (Anura: Aromobatidae). *Zootaxa*, 2406, 1–28.

Simões, P.I., Sturaro, M.J., Peloso, P.L.V., Lima, A.P. (2013a) A new diminutive species of *Allobates* Zimmermann and Zimmermann, 1988 (Anura, Aromobatidae) from the northwestern Rio Madeira/Rio Tapajós interfluvium, Amazonas, Brazil. *Zootaxa*, 3609 (3), 251–273. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3609.3.1>

Simões, P.I., Kaefer, I.L., Farias, I.P., Lima, A.P. (2013b) An integrative appraisal of the diagnosis and distribution of *Allobates sumtuosus* (Morales, 2002) (Anura, Aromobatidae). *Zootaxa*, 3746 (3), 401–421. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3746.3.1>

Simões, P.I. (2016) A new species of nurse-frog (Aromobatidae) from the Madeira River basin with a small geographic range. *Zootaxa*, 4083 (4), 501–525. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4083.4.3>

- Simões, P.I., Gagliardi-Urrutia, L.A.G., Rojas-Runjaic, F.J.M., Castroviejo-Fisher, S. (2018) A new species of nurse-frog (Aromobatidae, *Allobates*) from the Juami River basin, northwestern Brazilian Amazonia. *Zootaxa*, 4387: 109–133. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4387.1.5>
- Sukumaran, J., Knowles, L. (2017) Multispecies coalescent delimits structure, not species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114:1607–1612. <https://doi.org/10.1073/pnas.1607921114>
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A., Kumar, S. (2013) MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30: 2725–2729.
- Thompson, J.D., Higgins, D.G., Gibson, T.J. (1994) Clustal W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22(22): 4673-4680.
- Vences, M., Kosuch, J., Lotters, S., Widmer, A., Jungfer, K.H., Kohler, J., Veith, M. (2000) Phylogeny and classification of poison frogs (Amphibia: Dendrobatidae), based on mitochondrial 16S and 12S ribosomal RNA gene sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 15 (1): 34-40. <https://doi.org/10.1006/mpev.1999.0738>
- Vences, M., Kosuch, J., Boistel, R., Haddad, C.F.B., La Marca, E., Lötters, S., Veith, M. (2003) Convergent evolution of aposematic coloration in Neotropical poison frogs: a molecular phylogenetic perspective. *Organisms Diversity & Evolution*, 215–226. <https://doi.org/10.1078/1439-6092-00076>
- Vences, M., Köhler, J., Crottini, A., Glaw, F. (2010) High mitochondrial sequence divergence meets morphological and bioacoustic conservatism: *Boophis quasiboehmei* sp. n. a new cryptic tree frog species from south-eastern Madagascar. *Bonn Zoological Bulletin* 57:241–255.
- Vieites, D.R., Wollenberg, K.C., Andreone, F., Köhler, J., Glaw, F., Vences, M. (2009) Vast underestimation of Madagascar's biodiversity evidenced by an integrative amphibian inventory. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106 (20), 8267–8272. <https://doi.org/10.1073/pnas.0810821106>
- Wilson, E.O. (1992) The Diversity of Life. *Belknap Press of Harvard University Press*.
- Zhang, C., Lee, D.J., Chiang, Y.C., Richardson, R., Park, S., Wang, X., Laue, T.M., Denis, C.L. 2013 The RRM1 domain of the poly(A)-binding protein from *Saccharomyces cerevisiae* is critical to control of mRNA deadenylation. *Molecular Genetics and Genomics* 288(9):401-12.