



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

MARCELO DUARTE FREIRE

**ANFÍBIOS DO RIO GRANDE DO SUL: ATUALIZAÇÃO DO
CONHECIMENTO, TAXONOMIA E ASPECTOS DA HISTÓRIA
NATURAL**

PORTO ALEGRE, RS, BRASIL

2023

MARCELO DUARTE FREIRE

**ANFÍBIOS DO RIO GRANDE DO SUL: ATUALIZAÇÃO DO
CONHECIMENTO, TAXONOMIA E ASPECTOS DA HISTÓRIA
NATURAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Biologia Animal, Instituto de
Biodiversidade da Universidade Federal
do Rio Grande do Sul, como requisito
parcial à obtenção do título de Doutor em
Biologia Animal.

Área de concentração: Biodiversidade

Orientador(a): Profa. Dra. Laura Verrastro

Co-orientador(a): Dr. Iberê F. Machado

PORTO ALEGRE, RS, BRASIL

2023

MARCELO DUARTE FREIRE

**ANFÍBIOS DO RIO GRANDE DO SUL: ATUALIZAÇÃO DO
CONHECIMENTO, TAXONOMIA E ASPECTOS DA HISTÓRIA
NATURAL**

BANCA EXAMINADORA

Dra. Caroline Zank

Dra. Thais Helena Condez

Dr. Diego José Santana Silva

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos que participaram e contribuíram direta ou indiretamente nesta verdadeira epopeia que foi a realização deste trabalho, que em muito me enriqueceu em diferentes esferas, seja a nível pessoal, profissional e espiritual.

Primeiramente, gostaria de agradecer aos integrantes da banca, as doutoras Caroline Zank e Thais Helena Condez e ao doutor Diego J. Santana da Silva por aceitar o convite e por suas contribuições e sugestões ao nosso trabalho.

A minha orientadora Laura Verrastro por ter me recebido desde o primeiro momento e firmado uma parceria de trabalho sólida e me aceitado como orientado para realizar o doutorado. “Profe. Laura”, como carinhosamente é chamada por todos, tu além de tudo é uma Super mãezona com todos a tua volta e comigo não foi diferente, agradeço do fundo da minha alma por todos os ensinamentos, parcerias, paciência, suporte emocional e financeiro e principalmente na confiança que depositaste em mim e pela autonomia a mim dada ao longo de todo o processo. **MUITO OBRIGADO POR TUDO!**

A meu co-orientador Iberê Machado, por ter abraçado todos os projetos que imaginamos juntos e que foram mudando ao longo do tempo, principalmente após o início da pandemia! Cara, sem o teu apoio e ideias este trabalho não seria o mesmo, e digo mais, talvez nem acontecesse! Iberê, o teu incentivo constante foi força motriz em todos os momentos, principalmente quando estava quase desistindo...e agradeço verdadeiramente por ter acreditado no meu potencial de fazer coisas novas durante a realização deste doutorado! Eternamente grato, Ibereco!

Gostaria de agradecer a Carol Zank e Marcio Borges-Martins pelo acompanhamento do meu trabalho durante as bancas de acompanhamento da tese, e por terem sugerido várias mudanças que estão contidas na presente tese. Grato pelas sugestões, ideias e suporte!

Agradeço também a todos os colegas do Laboratório de Herpetologia da UFRGS, pelas parcerias, trocas, risadas e apoio. Vocês são ótimos parceiros e colegas de laboratório e serão grandes pesquisadores!

Agradeço a turma da 127, colegas e parceiros de várias, sou muito grato por ter feito parte, mesmo que já no final do processo (perdi várias festas e acontecimentos...kkk). Valeu galera do descontrole!

Serei eternamente grato ao meu amigo e irmão Patrick Colombo (JJ)! Cara, tu sempre foste uma inspiração e a tua amizade não tem preço e nem negociação! Apesar de divergências, o famoso contraditório, sempre nos entendemos e o teu apoio incondicional, das mais variadas formas, seja dinheiro, passagem de avião, computador, dentre outros regalos, além de acesso a tudo que foi possível na FZB, fez possível este doutorado! Te amo do fundo do meu coração!

Agradeço a Ricardo Ott, que devido à expertise na fotografia de todos os girinos e suas distintas morfologias, brindou este trabalho com material de imagem de ótima qualidade! Obrigado Ott!

Agradeço ao amigo de longa data, Dante Falarz, que destes tempos remotos de Nova York até hoje sempre me apoiou, principalmente por me abrigar no seu apartamento de POA quando a grana já estava curta! Valeu Dante, muito obrigado por tudo!

Agradeço imensamente ao apoio dado pela querida amiga Claudia Mata, parceira de todas as boas e ruins da vida e que sempre acreditou no meu trabalho e especialmente na realização do excelente trabalho profissional do mais alto nível de detalhe na formatação da presente tese. Te amo Claudits!

Agradeço também ao grande amigo Angelo Marcon, que me deu suporte total ao longo da caminhada! Super Vlw Angelito, iniciamos lá atrás no processo de seleção do doutorado, quando juntos (Eu, tu e Claudits) enviamos os documentos e hoje brindamos o fim desta etapa, juntos! Seguimos...

Ao amigo e agora colaborador Matias Malleret, que vivenciou comigo a descrição da nova espécie de *Scinax* e sempre foi parceiro em todas as etapas, conversas, trocas e discussões. Vlw Titi!

Ao amigo de longa data Estevão Comitti agora também colaborador, que conheci trabalhando com mamíferos e hoje é um expert em anfíbios de Santa Catarina! Vlw Titi Estevo pelas ideias, discussões e viagens!

Agradeço também a parceria de Marcia Mota, que entregou muito carinho e amizade ao longo de parte da presente tese.

Sou também muito grato pela amizade e parceria de Priscila Lopes (Pri) que me presenteou com todos os lindos mapas do capítulo 1, Super Vlw querida Pri!

Um agradecimento especial a Natália Vargas (Natiziha), pelo empenho de melhorar e trabalhar com as fotos do girino de *Physalaemus* sp. nov. Vlwzao Nati! Brigadão!

Agradeço também a todos os membros do grupo da família da FZB- POA! Obrigado por todo apoio, carinho e amizade...nossos campos e aventuras na Rebio Mata Paludosa atrás dos sapos e pererecas ficarão para sempre na memória.

Ao apoio institucional e financeiro da CAPES, que mesmo durante a pandemia, agilizou uma prorrogação de bolsa, que fez toda diferença para realização deste trabalho.

Agradeço ao apoio do PPG-BAN, pelos encaminhamentos realizados, parceria em diversas fases do doutorado e principalmente por ter concedido uma prorrogação no prazo de término da presente tese.

Agradeço pela paciência dos meus amados filhos, Natalia e Pedro, pelo apoio sempre dado e compreensão nas horas que estava ausente. Obrigado por serem quem são, pessoas amorosas e autossuficientes, e que estão trilhando os seus próprios caminhos! Amo vocês e podem sempre contar comigo!

A imaginação é mais importante que o conhecimento.

A mais bela coisa que podemos vivenciar é o mistério. Ele é fonte de qualquer arte verdadeira e qualquer ciência. Aquele que desconhece esta emoção, aquele que não para mais para pensar e não se fascina, está como morto: seus olhos estão fechados.

Há duas formas para viver a sua vida. Uma é acreditar que não existe milagre. A outra é acreditar que todas as coisas são um milagre.

Albert Einstein (1879-1955)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL.....	1
OBJETIVOS.....	14
CAPÍTULO I.....	16
Estado atual do conhecimento dos anfíbios do Rio Grande do Sul	16
CAPÍTULO II.....	101
Proposta da exclusão da ocorrência de oito espécies de anfíbios para o estado do Rio Grande do Sul, Brasil.....	101
CAPÍTULO III.....	114
First record of the swamp treefrog <i>Dendropsophus elegans</i> (Wied-Neuwied, 1824) (Hylidae) from the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil, with geographic distribution map ..	114
First record of <i>Scinax imbegue</i> Nunes, Kwet, and Pombal, 2012, (Amphibia: Anura: Hylidae) from the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil, with a geographic distribution map	120
CAPÍTULO IV	128
A new foam-nesting frog species of the <i>Physalaemus henselii</i> group (Leptodactylidae: Leiuperinae) from the Atlantic Forest of southern Brazil.....	128
CAPÍTULO V.....	183
A new snouted three frog species of the <i>Scinax ruber</i> group (Anura: Hylidae) related to <i>Scinax granulatus</i> (Peters, 1871) from the Atlantic Forest of southern Brazil.....	183
CAPÍTULO VI.....	235
The tadpole of the red-bellied toad, <i>Melanophryniscus dorsalis</i> (Mertens, 1933) (Anura: Bufonidae)	235
CONCLUSÕES	243

AVISO - RESPONSABILIDADE NOMENCLATORAL

As alterações taxonômicas apresentadas neste documento, incluindo novos taxa, combinações e sinonímia, são rejeitadas como atos nomenclaturais e não estão disponíveis, de acordo com o Artigo 8.3 do Código Internacional de Nomenclatura Zoológica.

NOMENCLATORAL DISCLAIMER

The taxonomic changes presented herein, including new taxa, combinations, and synonymy, are disclaimed as nomenclatural acts and are not available, in accordance with Article 8.3 of the International Code of Zoological Nomenclature.

RESUMO

Na presente tese, realizamos estudos de diferentes, porém amplamente relacionados aspectos tratando da atualização do conhecimento de espécies de anfíbios do Rio Grande do Sul, sul do Brasil, com novos registros de ocorrência das espécies *Dendropsophus elegans* e *Scinax imbegue* para o estado e descrição de duas novas espécies pertencentes aos gêneros (*Scinax* e *Physalaemus*) para a Floresta Atlântica do sul do Brasil, bem como descrição da morfologia larval de espécie rara e ameaçada de anuro (*Melanophryniscus dorsalis*).

No capítulo 1, realizamos a atualização do conhecimento da riqueza, composição e distribuição sobre as espécies de anfíbios do Rio Grande do Sul. Adicionalmente, também verificamos os padrões de distribuição das espécies em relação aos distintos biomas e fitofisionomias associadas. De forma complementar, elencamos aquelas espécies de potencial ocorrência para o estado do Rio Grande do Sul, e adotamos a categorização do status de conservação das espécies no âmbito regional, nacional e mundial, além de indicar aquelas espécies ainda não avaliadas quanto ao seu status de conservação.

No capítulo 2, realizamos uma ampla revisão bibliográfica, consulta em banco de dados de coleções do estado e a especialistas e curadores de coleções científicas nacionais e estrangeiras. Desta forma, visando buscar informações e atualização do status de ocorrência geográfica para algumas espécies, que supostamente ocorrem ou ocorreram no estado, mas que devido à falta de investigação recentes, e conjunto de evidências obtido, devem ser propostas para serem retiradas da lista de espécies de anfíbios do estado do Rio Grande do Sul na presente revisão.

No capítulo 3, documentamos os registros de ocorrência de duas espécies de anuros da Família Hylidae para áreas da Floresta Atlântica no nordeste do estado do Rio Grande do Sul, sendo elas, as pererecas *Dendropsophus elegans* e *Scinax imbegue*. Para *D. elegans*, adicionalmente confeccionamos um mapa de distribuição atualizado de todos os registros de ocorrências conhecidos da espécie no Brasil e a para *S. imbegue*, gravamos, analisamos e comparamos as características acústicas do canto de anúncio, em relação a estudos prévios, permitindo a correta identidade do táxon.

No capítulo 4, registramos e coletamos espécimes de um táxon na Mata Atlântica do sul do Brasil que não conseguimos atribuir a nenhuma das espécies atualmente nominadas no gênero *Physalaemus*. Neste estudo, nomeamos e descrevemos este táxon como uma nova espécie do grupo *P. henselii* com base no estudo da morfologia de adultos e girinos, canto de anúncio, sequências de DNA e uso de habitat.

No capítulo 5, descrevemos uma nova espécie de anuro do gênero *Scinax* do clado *ruber*, relacionada a espécie *Scinax granulatus* da Mata Atlântica do estado do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, sul do Brasil, com base na aplicação de taxonomia integrativa na morfologia e morfometria de adultos e girinos, e análise bioacústica. Adicionalmente, realizamos ampla comparação entre a nova espécie e demais espécies descritas dentro do grupo *ruber*.

No capítulo 6, descrevemos a morfologia externa do girino de *Melanophryniscus dorsalis*, espécie ameaçada de sapo-de-barriga-vermelha da família Bufonidae e comparamos com a literatura atualmente disponível de descrições de girinos do gênero.

Palavras-chave: Atualização do conhecimento; anfíbios; anuros; taxonomia integrativa; girinos; bioacústica

ABSTRACT

In this thesis, we carried out studies of different aspects related to the update of current knowledge on the amphibian species from Rio Grande do Sul, southern Brazil, with new occurrence records of species (*Dendropsophus elegans* and *Scinax imbegue*) for the state and the description of two new ones (*Scinax* and *Physalaemus*) for the Atlantic Forest of southern Brazil, as well as a description of the larval morphology of a rare and endangered toad species (*Melanophryniscus dorsalis*).

In chapter 1, we updated the knowledge of the richness, composition and distribution for the amphibian species of Rio Grande do Sul state. In addition, we also check species distribution patterns in relation to different biomes and associated phytophysionomies. In a complementary way, we listed species of potential occurrence for the state of Rio Grande do Sul, and follow the categorization of the conservation status

of the species in the regional, national and global level, in addition to indicating those species that have not yet been evaluated regarding their conservation status.

In chapter 2, we carried out an extensive bibliographical review, querying the state collections database and consulting specialists and curators of national and foreign scientific collections. In this sense, in order to seek information and update the geographic status of occurrence of some species, which supposedly occur or occurred in the state, but which, due to lack of recent investigation, and based on our research and the set of evidence obtained, must be proposals to be removed from the list of species in Rio Grande do Sul in the present review.

In chapter 3, we presented the first occurrence records of two frog species of the Family Hylidae for areas of the Atlantic Forest in the northeast of the state of Rio Grande do Sul, namely, the tree frogs *Dendropsophus elegans* and *Scinax imbegue*. For *D. elegans*, we additionally made an updated distribution map of all known occurrence records of the species in Brazil and for *S. imbegue*, we recorded, analyzed, and compared the acoustic characteristics of the advertisement call, in relation to previous studies, allowing a correct identity of the taxon.

In Chapter 4, we recorded and collected specimens of a taxon in the Atlantic Forest of southern Brazil that we were unable to assign to any of the currently nominal species in the genus *Physalaemus*. In this chapter, we named and described this taxon as a new species of the *P. henselii* group based on the study of adult and tadpole morphology, advertisement call, DNA sequences and habitat use.

In chapter 5, we describe a new frog species of the genus *Scinax* of the *ruber* clade, related to the species *Scinax granulatus* from the Atlantic Forest of the states of Rio Grande do Sul and Santa Catarina, southern Brazil, based on the application of integrative taxonomy in the morphology and morphometry of adults and tadpoles, and bioacoustic analysis. Additionally, we performed a broad comparison between the new species and other species described within the *Scinax* species of the *ruber* clade.

In Chapter 6, we describe the external morphology of the tadpole of *Melanophryniscus dorsalis*, an endangered species of red-bellied toad of the Bufonidae

family, and compare it with the currently available literature on descriptions of tadpoles of the genus.

Keywords: Current knowledge; amphibians; anuran; integrative taxonomy; tadpoles; bioacoustics

INTRODUÇÃO GERAL

A perda de biodiversidade planetária tem sido nomeada “crise na Biodiversidade” e considerada uma das principais problemáticas sociais e ambientais do século 21 (Wilson & Frances, 1997). Dentre algumas atividades humanas reconhecidas, e que tiveram início a pelo menos dois séculos, estão a destruição e fragmentação de habitats, poluição, agricultura em larga escala, expansão de espécies invasoras e patógenos, entre outras questões, tem causado uma catastrófica perda da biodiversidade planetária (e.g., Hughes et al., 1997; Brooks et al. 2006). Alternativamente, estas ações antropogênicas estão ligadas ao “sexto evento de extinção”, um declínio acelerado da diversidade biológica, com estimativas atuais apontando para taxas superiores as ocorridas anteriormente, com diversas espécies extintas nos últimos 100 anos e aproximadamente 40% de todas as espécies consideradas ameaçadas no mundo na atualidade (Ceballos et al. 2010). Reflexo disso, no caso especial dos anfíbios, é que esta fauna vem sofrendo um declínio a nível mundial amplamente documentado na literatura científica (Alford & Richards, 1999; Green, 2003). Segundo Blaunstein & Kiesecker (2002), anfíbios estão sujeitos simultaneamente a um ‘coquetel’ de fatores estressantes de características bióticas e abióticas que atuam de forma variada e sinérgica. Segundo estes autores, algumas generalizações podem ser feitas sobre as causas de declínios populacionais de anfíbios, como por exemplo, o conjunto de interações entre mudanças ambientais locais (alteração do habitat), regionais (contaminantes químicos), em escala global (mudança climática e/ou radiação UV-B) com modificações das interações bióticas locais (doenças e/ou introdução de espécies). Estes fatores são amplificados negativamente para anfíbios, quando aproximadamente 41 % das espécies mundiais estão ameaçadas e/ou com populações declinando (43%) e a percentagem de espécies sem conhecimento adequado para alguma avaliação de seus status de conservação (DD – dados insuficientes) totaliza 22.5%, valor em muito superior ao encontrado para mamíferos e aves juntos (Stuart et al. 2008; Howard & Bickford, 2014; Nori & Loyola, 2015; Borgelt et a. 2022, IUCN, 2023). No Brasil, dados atuais sobre as espécies brasileiras de anfíbios corroboram o padrão mundial encontrado, uma vez que substancial quantidade de espécies brasileiras está enquadrada como ameaçadas ou DD (LIVE 2014, Brasil, 2022; ICMBio, 2022; IUCN 2022). De forma antagônica a esta problemática, o Brasil é o país que detém a maior diversidade de espécies de anfíbios no mundo (1188 espécies), com aproximadamente 1144 anuros (Segalla et al. 2021). Embora possua a maior diversidade de anuros do mundo, muitas das

informações utilizadas em estudos integrativos tratando conjuntamente de taxonomia, distribuição geográfica e análises moleculares, bem como aspectos da história natural da grande maioria das espécies, como descrição de vocalizações e morfologia de girinos, permanecem desconhecidas e amplamente subestimadas (e.g. Guerra et al. 2018; Guerra et al. 2020; Pezzuti et al. 2021), principalmente nos biomas Mata Atlântica e Amazonia.

De especial interesse quanto a sua biodiversidade biológica, o bioma Mata Atlântica é considerado um dos ecossistemas mais ameaçados do mundo (Fonseca, 1985). Por conta disso, foi incluída na categoria de *hotspot* global - regiões ameaçadas que apresentam grande quantidade de espécies endêmicas e/ou raras sob forte pressão - sendo considerada uma das cinco regiões do planeta com elevado índice de diversidade biológica (Morellato & Haddad, 2000; Tabarelli & Gascon, 2005). Apesar de extensa área original estimada em 1,4 milhão de km² (15% do território nacional), disposta em uma variedade de solos e relevos e condições climáticas diversas, os números atuais sobre a devastação da Mata Atlântica indicam que restaram somente 28,4 % da floresta original, (contra 64,7% de atividades agropecuárias) distribuídas em poucas unidades de conservação (UC's) e em remanescentes florestais pequenos e fragmentados (Projeto MapBiomas – Coleção 2022). Dentre as principais causas apontadas está o extenso histórico de exploração e devastação, iniciado com a colonização europeia no século XIV e mantido até os dias de hoje por intermédio de atividades agrícolas, industriais e expansão urbana das últimas décadas (Dean, 1996). Em contraponto a grande biodiversidade da Floresta Atlântica, está o nível de conhecimento e informações biológicas adquiridas, podendo-se afirmar, que em determinados aspectos (e.g. história natural das espécies), pouco conhecimento foi acumulado até o momento, existindo uma extensa lacuna de informações biológicas, apesar de sensível avanço nos últimos anos, principalmente na região sudeste do país (e.g., Haddad et al. 2013; Rossa-Ferez et al. 2017).

Neste sentido, urge uma grande necessidade no estudo e compreensão mais ampla da biodiversidade do planeta, criando demandas para a implementação de estratégias que maximizem esforços em conservação (Margules & Pressey, 2000; Primack & Rodrigues, 2001; Mace, 2004), com as enormes lacunas de conhecimento atuais consideradas os maiores obstáculos para obtenção de melhores resultados na conservação da biodiversidade (e.g. Bini et al. 2006; Diniz-Filho et al. 2008; Loyola et al. 2008 Hortal et al. 2015). A principal estratégia para a proteção de espécies é o conhecimento acumulado

que se tem sobre elas (Lomolino, 2004; Padial, 2010; Hortal et al., 2015), apesar da obtenção de informações satisfatórias e completas sobre determinadas características da biodiversidade serem consideradas inexequíveis (Ladle & Hortal, 2013), frente a incapacidade humana na compreensão destes fatores de forma rápida e dinâmica (e.g. inventário de espécies).

Além da importância intrínseca no reconhecimento da diversidade, riqueza e composição de espécies de um determinado local ou área geográfica, a compilação e atualização de listas de espécies são de importância crucial, pois, constituem em ferramenta fundamental no planejamento de ações de conservação visando ambientes e espécies (e.g., Padial & De La Riva, 2006; Hurlbert & Jetz, 2007). As atualizações das listas e do conhecimento sobre as espécies auxiliam na promoção da categorização do status de conservação das espécies e da identificação de suas ameaças, que em última análise, produzem resultados efetivos na proteção de espécies e ambientes e estabelecimento de áreas para conservação da biodiversidade (Heyer et al. 1994; Mace, 2004; Padial & De la Riva, 2006; Stuart et al. 2008; Garnett et al. 2020). Listas de espécies devem ser foco de constantes atualizações, devido às suas características intrínsecas (e.g. resoluções taxonômicas) e dinâmica de fluxo de informações biológicas (e.g. estudos genéticos, história natural), taxonômicas e nomenclaturais, sendo alteradas através de estudos e revisões abrangentes, aumento de distribuição geográfica e descrições de novas espécies, principalmente em áreas remotas ou não amostradas, conjugando as revisões em coleções científicas (Padial & De la Riva, 2006; Verdade et al. 2012; Hortal et al. 2014).

Em uma escala regional de diversidade, o estado do Rio Grande do Sul possui aproximadamente 108 espécies de anfíbios (Braun & Braun 1980; Colombo et al. 2010; LIVE, 2014; Freire et al. 2016). Cerca de 90% desse total ocorrendo de forma não exclusiva na Floresta Atlântica *lato sensu*. Apesar disso, o reconhecimento da riqueza de espécies de anfíbios no Rio Grande do Sul encontra-se bastante defasado. Após mais de 40 anos da lista de espécies de anfíbios de Braun & Braun (1980), este trabalho ainda é considerado importante base do conhecimento da riqueza e distribuição de anfíbios (porém veja Zank, 2012 e Alvares et al. 2022 para anfíbios da porção da Savana Uruguaia no Rio Grande do Sul). Assim, existe uma demanda urgente por uma compilação atualizada tratando da riqueza, composição e distribuição de espécies de anfíbios que ocorrem no estado do Rio Grande do Sul (capítulo 1 e 2) (LIVE, 2014), ainda sendo

esperado o registro de novas ocorrências de espécies de anfíbios para o estado (capítulo 3) e novas descrições (capítulo 4 e 5).

O Brasil abriga a maior diversidade de espécies de anfíbios do mundo na atualidade e estimativas indicam que diversas espécies ao longo dos distintos biomas brasileiros ainda aguardam para serem registradas e descritas (e.g. Fouquet et al. 2007; Ferrão et al. 2016; Guerra et al. 2020; Segalla et al. 2021). Para o Rio Grande do Sul, esta sentença ainda é válida, dado o aporte recente de algumas espécies descritas ou validadas para o estado (Cruz & Fusinato, 2008; Baldo et al. 2019; Rosset et al. 2021), sendo esperado que novas espécies sejam descritas futuramente, inclusive espécies associadas a gêneros cosmopolitas e de ampla distribuição, porém de diversidade ainda inexplorada, como as rãs do gênero *Physalaemus* e pererecas do gênero *Scinax* (Lourenço et al. 2015; Araujo-Vieira et al. 2020).

Rãs neotropicais do gênero *Physalaemus* Fitzinger 1826 compreendem espécies de anuros de pequeno porte, normalmente ocupando uma grande variedade de ambientes, onde depositam ninhos de espuma (“foam nest”) em poças temporárias e ambientes sazonalmente inundados durante a atividade de reprodução em áreas abertas e florestais (e.g., Barrio, 1965; Bokermann, 1966; Haddad & Pombal, 1998). O gênero *Physalaemus* Fitzinger 1826 é composto atualmente por 50 espécies com distribuição desde as Guianas até o Uruguai (Frost, 2023), sendo considerado o mais representativo dentro da subfamília Leiuperinae. No Brasil são reconhecidas 43 espécies distribuídas ao longo dos biomas existentes (e.g., Lourenço et al. 2015; Leal et al. 2021), com aproximadamente 32 espécies apresentando distribuição nos domínios da Mata Atlântica (Rossa-Ferez et al. 2017). Nas últimas décadas, a composição e relações entre espécies do gênero *Physalaemus* foram objeto de extensa revisão, bem como, profundas mudanças taxonômicas em diversos níveis de classificação (Lynch, 1970; Nascimento et al. 2005; Frost et al. 2006; Ron et al. 2006; Grant et al. 2006; Pyron & Wiens, 2011; Lourenço et al., 2015). Lynch (1970), a partir de análise de caracteres morfológicos arranhou as espécies em quatro grupos distintos: *Physalaemus biligonigerus*, *Physalaemus cuvieri*, *Physalaemus pustulosus* e *Physalaemus signifer*. O trabalho de Nascimento et al. (2005) revisou a proposta de Lynch (1970), adotando análises utilizando grupos fenéticos, redefinindo 7 grupos de espécies dentro do gênero *Physalaemus*: *Physalaemus albifrons*, *Physalaemus cuvieri*, *Physalaemus deimaticus*, *Physalaemus gracilis*, *Physalaemus henselii*, *Physalaemus olfersii* e *Physalaemus signifer*. Baseado em análises filogenéticas utilizando dados morfológicos e moleculares, Grant et al. (2006) recuperou a família

Leiuperidae. Posteriormente, Pyron & Wiens (2011) realocaram o gênero *Physalaemus* novamente dentro da família Leptodactylidae, criando a subfamília Leiuperinae, que compreende atualmente os gêneros *Edalorhina*, *Engystomops*, *Eupemphix*, *Physalaemus*, *Pleurodema* e *Pseudopaludicola*. Por fim, recentemente, por intermédio de extensa análise molecular, o gênero *Physalaemus* foi organizado em dois clados principais: clado *Physalaemus signifer* e clado *Physalaemus cuvieri* (Lourenço et al. 2015). No estado do Rio Grande do Sul são encontradas atualmente 8 espécies de anuros pertencendo ao gênero *Physalaemus*: *P. biligonigerus*, *P. carrizorum*, *P. cuvieri*, *P. gracilis*, *P. henselii*, *P. lisei*, *P. nanus* e *P. riograndensis* (Braun & Braun, 1980; Nascimento et al. 2005). Ainda existem espécies não descritas de *Physalaemus* para o estado do Rio Grande do Sul, como é o caso de uma nova espécie de *Physalaemus* do grupo *henselii* descrita no presente estudo (capítulo 4).

No caso de espécies do gênero *Scinax* Wagler 1830, este gênero Neotropical é composto por 130 espécies descritas de pererecas de pequeno a médio porte distribuídas desde o sul do México até o centro-leste da Argentina, incluindo as ilhas caribenhas de Trinidad e Tobago e Santa Lúcia (Faivovich et al. 2005; Frost, 2023). *Scinax* atualmente representa o gênero mais rico em espécies dentro de Hylinae e ocupa os principais ambientes tropicais e subtropicais, com um grande número de espécies na Mata Atlântica, seguido pelo bioma Cerrado e Amazônia (e.g., Lutz, 1973; Pombal et al. 1995; Nunes & Pombal 2011; Fouquet et al. 2007). Considerando a distribuição das espécies do gênero na região da Mata Atlântica, são conhecidas 80 espécies, sendo 66% (53 espécies) endêmicas da região (Rossa-Ferez et al 2017; Lourenço et al. 2019; Lacerda et al. 2021; Novaes-Fagundes et al. 2021). Dois clados principais foram reconhecidos dentro de *Scinax*: os clados *S. catharinae* e *S. ruber* (Faivovich 2002; Faivovich et al. 2005). O clado *S. catharinae* abriga atualmente 51 espécies distribuídas no grupo *S. catharinae* e grupo *S. perpusillus* (Lacerda et al. 2012; Lacerda et al. 2021). O clado *S. ruber* compreende atualmente 78 espécies, das quais apenas 13 espécies estão alocadas nos dois grupos de espécies reconhecidos: os grupos *S. rostratus* (10 espécies) e *S. uruguayus* (três espécies) com um grande número de espécies (65 espécies) não atribuídas a nenhum grupo (Lima et al. 2005; Baldo et al. 2019; Araujo-Vieira et al. 2020). A taxonomia do gênero *Scinax* pode ser considerada uma tarefa complexa que carece de um estudo filogenético mais abrangente (e.g., Peixoto, 1987; Pombal & Gordo, 1991; Faivovich 2002, 2005; Duellmann & Wiens, 2016; Araujo-Vieira et al. 2020).

Recentemente, Malleret et al (2022) com base em uma ampla amostra de populações de *Scinax granulatus* e utilizando dados moleculares, diferenciaram quatro linhagens de mtDNA associadas a duas espécies distintas, uma relacionada à forma nominal e a outra, a uma espécie candidata confirmada (CCS - *Scinax* sp. linhagem D) da Mata Atlântica do sul do Brasil, que está contemplada na presente tese, tratando da descrição desta nova espécie (capítulo 5) por intermédio de taxonomia integrativa utilizando adultos, girinos e bioacústica.

Por fim, de modo geral, diversos aspectos da história natural de muitas espécies de anfíbios são desconhecidos no Brasil (Haddad et al. 2013; Rossa-Ferez et al. 2017). Em especial, para espécies ditas inconspícuas, frequentemente pouco abundantes na natureza, e que apresentam reprodução explosiva, como os sapos de barriga vermelha do gênero *Melanophryniscus* (e.g., Zank et al. 2014).

O gênero neotropical *Melanophryniscus* Gallardo, conhecido como sapo sul-americano de barriga vermelha, compreende um grupo de pequenas, carismáticas e intrigantes espécies de sapos. Atualmente, são conhecidas 31 espécies, além de diversas espécies ainda não descritas, que estão distribuídas do sudeste do Brasil ao centro e norte da Argentina, Uruguai, Paraguai e Bolívia (Peloso et al. 2012; Baldo et al. 2014; Zank et al. 2014; Pie et al. 2017; Frost 2023).

Três grupos fenéticos são reconhecidos com base na morfologia externa, padrões de coloração, morfologia dos girinos e habitat reprodutivo: grupo *M. moreirae*, principalmente espécies fitotelmatas; grupo *M. tumifrons*, habitando riachos lóticos temporários ou permanentes; e grupo *M. stelzneri*, em poças temporárias e corpos d'água lênticos; além disso, existem algumas espécies não classificadas em nenhum grupo (Cruz & Caramaschi 2003; Baldo et al. 2014).

Ocorrem no Rio Grande do Sul aproximadamente 40 % (12 spp.) de todas as espécies de *Melanophryniscus* válidas (31 spp.), posicionando o estado como importante área de diversidade do gênero (Zank et al. 2014; Baldo et al. 2014).

Apesar disso, o gênero *Melanophryniscus* é carente de um estudo filogenético abrangente. Afora um único estudo que explora as relações filogenética para o grupo de espécie de bromélias (grupo *moreirae*) (Pie et al. 2017), existe uma carência antiga sobre uma análise filogenética mais ampla para acessar as relações internas dentro dos grupos de espécies popostos para o gênero e assim, elucidar a taxonomia de algumas espécies de *Melanophryniscus* (Baldo et al. 2014).

De forma adicional, são conhecidas e documentadas inúmeras ameaças á diversas espécies e seus ambientes, resultando em categorização de status de conservação de ameaça (VU, EN e CR) à nível global, nacional e regional (RS) para grande número de espécies (LIVE, 2014; Zank et al. 2014; Brasil, 2022).

Uma revisão abrangente baseada na morfologia comparativa de larvas de *Melanophryniscus* resultou em um avanço significativo das informações tratando da morfologia externa e interna de girinos (Baldo et al. 2014). Embora tenha ampliado a compreensão da diversidade de espécies no gênero, nove espécies ainda têm seus girinos não descritos (Baldo et al. 2014 e referências nele contidas). *Melanophryniscus dorsalis* (grupo *M. stelzneri*) é um pequeno sapo ameaçado que ocorre em uma área de distribuição limitada e sob forte pressão antrópica, ao longo das áreas de baixada costeira dos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, no sul do Brasil (ICMBio, 2022; IUCN 2023 e referências nele contidas). Na presente tese (capítulo 6), descrevemos a morfologia externa do girino de *M. dorsalis* e comparamos com a literatura atualmente disponível de descrições de girinos do gênero.

Referências Bibliográficas

- ALFORD, R.A.; RICHARDS, S.J., (1999). Global amphibian decline: a problem in applied ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*. **30**, 133-165.
- ALVARES, D. J., FERRARI, A., & BORGES-MARTINS, M. (2022). Geographic distribution patterns of amphibians and reptiles from the Uruguayan Savanna. *Systematics and Biodiversity*, **20**(1), 1-17.
- ARAUJO-VIEIRA, K., POMBAL JR, J. P., CARAMASCHI, U., NOVAES-E-FAGUNDES, G., ORRICO, V. G., & FAIVOVICH, J. (2020). A neotype for *Hyla x-signata* Spix, 1824 (Amphibia, Anura, Hylidae). *Papéis Avulsos de Zoologia*, **60**.
- BALDO, D., VERA CANDIOTI, F., HAAD, B., KOLENC, F., BORTEIRO, C., PEREYRA, M.O., ZANK, C., COLOMBO, P., BORNSCHEIN, M.R., SISA, F.N., BRUSQUETTI, F., CONTE, C.E., NOGUEIRA-COSTA, P., ALMEIDA-SANTOS, P. & PIE, M.R. (2014). Comparative morphology of pond, stream and phytotelm-dwelling tadpoles of the South American Redbelly Toads (Anura: Bufonidae: *Melanophryniscus*). *Biological Journal of the Linnean Society*, **112**, 417–441.
- BALDO, D.; ARAUJO-VIEIRA, K.; CARDOZO, D.; BORTEIRO, C.; LEAL, F.; PEREYRA, M.O., KOLENC, F.; LYRA, M.L.; GARCIA, P.C.A.; HADDAD, C.F.B. & FAIVOVICH, J. (2019). A review of the elusive bicolored iris Snouted treefrogs (Anura: Hylidae: *Scinax uruguayus* group). *PLoS One*, **14**(9): e0222131.

- BARRIO, A. (1965). El genero *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) en la Argentina. *Physis*, **25(70)**:421-448.
- BINI, L.M.; DINIZ-FILHO, J.A.F.; RANGE, T.F.L.V.B.; BASTOS R.P. & PINTO, M.P., (2006). Challenging Wallacean and Linnean shortfalls: knowledge gradients and conservation planning in a biodiversity hotspot. *Diversity & Distributions*, v. **12**, n. **5**, p. 475-482.
- BLAUSTEIN A.R. & KIESECKER J.M., (2002). Complexity in conservation: Lessons from the global decline of amphibian populations. *Ecology Letters* **5**: 597- 608.
- BORGELT, J., DORBER, M., HØIBERG, M. A., & VERONES, F., (2022). More than half of data deficient species predicted to be threatened by extinction. *Communications biology*, **5**(1), 1-9.
- BOKERMANN, W. C. A. (1966). Dos nuevas especies de *Physalameus* de Espirito Santo, Brasil (Amphibia, Leptodactylidae). *Physis. Buenos Aires* **26**: 193–202.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Gabinete do Ministro. **Portaria MMA nº 148, de 7 de junho de 2022**. Altera os Anexos da Portaria nº 443, de 17 de dezembro de 2014, da Portaria nº 444, de 17 de dezembro de 2014, e da Portaria nº 445, de 17 de dezembro de 2014, referentes à atualização da Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 8 jun. 2022. p. 74.
- BRAUN, P.C. & BRAUN, C.A.S., (1980). Lista prévia dos anfíbios do Rio Grande do Sul, Brasil. *Iheringia, Série Zoologia*, **56**, 121-146.
- BROOKS, T.M.; MITTERMEIER, R.A.; FONSECA, G.A.B.; GERLACH, J. M.; HOFFMANN, J.F.; MITTERMEIER, C.G.; PILGRIM, J.D. & A.S.L. RODRIGUES., (2006). Global Biodiversity Conservation Priorities. *Science* **313**: 58-61.
- CEBALLOS, G., GARCÍA, A., & EHRLICH, P. R., (2010). The sixth extinction crisis: Loss of animal populations and species. *Journal of Cosmology*, **8**(1821), 31.
- COLOMBO, P., ZANK, C., BÜHLER, D., SCHOSSLER, M., BALESTRIN, R. L., SANTOS, R. R., ... & VERRASTRO, L. (2010). Anura, Hylidae, *Dendropsophus nahdereri* (Lutz and Bokermann, 1963): Distribution extension and new state record. *Check list*, **6(3)**, 429-431.
- CRUZ, C.A.G. & FUSINATTO, L.A., (2008). A new species of *Dendrophryniscus* Jiménez de la Espada, 1871 (Amphibia, Anura, Bufonidae) from the Atlantic Rain Forest of Rio Grande do Sul, Brazil. *South American Journal of Herpetology*, **3**, 22–26.
- CRUZ, C.A.G. & CARAMASCHI, U. (2003) Taxonomic status of *Melanophryniscus stelzneri dorsalis* (Mertens, 1933) and *Melanophryniscus stelzneri fulvoguttatus* (Mertens, 1937) (Amphibia, Anura, Bufonidae). *Boletim do Museu Nacional, Rio de Janeiro, Nova Serie, Zoologia*, **500**, 1–11.
- DEAN, W. (1996). A ferro e fogo - A história e a devastação da Mata Atlântica Brasileira. São Paulo, *Companhia das Letras*, 484p.
- DINIZ-FILHO, J.A.F.; BINI, L.M.; VIEIRA, C.M.; BLAMIRE, D.; TERRIBILE, L.C.; BASTOS, R.P.; OLIVEIRA, G. & BARRETO, B.S., (2008). Spatial patterns of terrestrial vertebrate species richness in the Brazilian Cerrado. *Zoological Studies*, v. **47**, n. **2**, p. 146–157.
- DUELLMAN W.E., MARION A.M., HEDGES S.B., (2016). Phylogenetics, classification, and biogeography of the treefrogs (Amphibia: Anura: Arboranae). *Zootaxa* **4104**:1–109.

- FAIVOVICH, J. (2002). A cladistic analysis of *Scinax* (Anura: Hylidae). *Cladistics*, **18**(4), 367-393.
- FAIVOVICH, J.; HADDAD, C.F.B.; GARCIA, P.C.A.; FROST, D.R.; CAMPBELL, J.A. & WHEELER, W.C. (2005). Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, **294**: 1-240.
- FERRÃO, M., COLATRELI, O., DE FRAGA, R., KAEFER, I. L., MORAVEC, J., & LIMA, A. P. (2016). High species richness of *Scinax* treefrogs (Hylidae) in a threatened Amazonian landscape revealed by an integrative approach. *Plos one*, **11**(11),
- FONSECA, G.A.B., (1985). The vanishing Brazilian Atlantic Forest. *Biological Conservation*, **London**, **34** (1): 17-34.
- 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
- FREIRE, M. D; COLOMBO, P.; ZANK, C. & MODKOWSKI, S. P., (2016). Southermost records of the anurans, *Chiasmocleis leucosticta* (Boulenger, 1888) (Microhylidae) and *Dendropsophus weneri* (Cochran, 1952) (Hylidae), in the Atlantic Forest, Brazil. *Herpetology Notes*, **volume 9**: 149-155.
- FROST, D. R.; GRANT, T.; FAIVOVICH, J.; BAIN, R. H.; HAAS, A.; HADDAD, C. F. B.; SÁ, R. O. DE; CHANNING, A.; WILKINSON, M.; DONNELLAN, S. C. (2006). The amphibian tree of life. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* **297**: 1-291.
- FROST, D.R. (2023). **Amphibian Species of the World: An Online Reference**. Version 6.1. American Museum of Natural History, USA. Disponível em: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. Acesso em dezembro de 2022.
- GARNETT, S. T., CHRISTIDIS, L., CONIX, S., COSTELLO, M. J., ZACHOS, F. E., BÁNKI, O. S., ... & THIELE, K. R., (2020). Principles for creating a single authoritative list of the world's species. *PLoS Biology*, **18**(7).
- GRANT, T., FROST, D. R., CALDWELL, J. P., GAGLIARDO, R. O. N., HADDAD, C. F., KOK, P. J., ... & WHEELER, W. C. (2006). Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of natural History*, **2006**(299), 1-262.
- GREEN, D., (2003). The ecology of extinction: population fluctuation and decline in amphibians. *Biological Conservation*, **v. 111**, p. 331-343.
- GUERRA, V., LLUSIA, D., GAMBALE, P. G., MORAIS, A. R. D., MARQUEZ, R., & BASTOS, R. P., (2018). The advertisement calls of Brazilian anurans: Historical review, current knowledge and future directions. *PLoS One*, **13**(1), e0191691.
- GUERRA, V., JARDIM, L., LLUSIA, D., MÁRQUEZ, R., & BASTOS, R. P., (2020). Knowledge status and trends in description of amphibian species in Brazil. *Ecological Indicators*, **118**, 106754.

- HADDAD, C. F., & POMBAL JR, J. P., (1998). Redescription of *Physalaemus spiniger* (Anura: Leptodactylidae) and description of two new reproductive modes. *Journal of Herpetology*, 557-565.
- HADDAD, C.F.B., L.F. TOLEDO, C.P.A. PRADO, D. LOEBMANN, J.L. GASPARINI & I. SAZIMA., (2013). Guia dos anfíbios da Mata Atlântica – diversidade e biologia. São Paulo: *Anolis Books*, 542 pp.
- HEYER, W.R.; DONNELLY, M.A.; MCDIARMID, R.W.; HAYEK, L.C. E FOSTER, M.S., (1994). Measuring and monitoring biological diversity. Standard methods for Amphibians. **Smithsonian Institution Press, Washington.**
- HORTAL, J.; D. E. BELLO, F.; DINIZ-FILHO, J.A.F.; LEWINSOHN, T.M.; LOBO, J.M. & LADLE, R.J., (2015). Seven shortfalls that beset large-scale knowledge of biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **46**, 523-549.
- HOWARD, S. D., & BICKFORD, D. P., (2014). Amphibians over the edge: silent extinction risk of Data Deficient species. *Diversity and Distributions*, **20(7)**, 837-846.
- HUGHES, J.B.; DAILY, G.C. & EHRLICH, P.R., (1997). Population diversity: its extent and extinction. *Science*, **278**, p. 689-692.
- HURLBERT, A.H. & JETZ, W., (2007). Species richness, hotspots, and the scale dependence of range maps in ecology and conservation. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*, **104**, 13384–13389.
- ICMBIO (2022). Sistema de Avaliação do Risco de Extinção da Biodiversidade – SALVE. Acessível na página: salve.icmbio.gov.br/salve/.
- IUCN (2023). The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2022-2.
- LACERDA, J. V. A., PEIXOTO, O. L., & FEIO, R. N. (2012). A new species of the bromeligenous *Scinax perpusillus* group (Anura; Hylidae) from Serra do Brigadeiro, State of Minas Gerais, Southeastern Brazil. *Zootaxa*, **3271(1)**, 31-42.
- LACERDA, J. V. A., FERREIRA, R. B., ARAUJO-VIEIRA, K., ZOCCA, C., & LOURENÇO, A. C. C. (2021). A New Species of *Scinax* Wagler (Amphibia, Anura, Hylidae) from the Atlantic Forest, Southeastern Brazil. *Ichthyology & Herpetology*, **109(2)**, 522-536.
- LADLE, R. J.; HORTAL, J., (2013). Mapping species distributions: living with uncertainty. *Frontiers of Biogeography*, v. **5**, p. 8-9.
- LEAL, F., F. S. F. LEITE, W. DA COSTA, L. B. NASCIMENTO, L. B. LOURENÇO, AND P. C. DE A. GARCIA. (2020). Amphibians from Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil. VI: A new species of the *Physalemus deimaticus* Group (Anura, Leptodactylidae). *Zootaxa* **4766**: 306–330
- LIMA, L.P., BASTOS, R.P., GIARETTA, A.A. (2004). A new *Scinax* Wagler, 1839 of the *S. rostratus* group from central Brazil (Amphibia, Anura, Hylidae). *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro* **62**: 505–512.
- LIVE – FUNDAÇÃO ZOOBOTÂNICA DO RIO GRANDE DO SUL (2014). Avaliação do Estado de Conservação de Espécies da Fauna. Lista Vermelha da Fauna. <https://secweb.procergs.com>.

- LOMOLINO, M.V., (2004). Conservation biogeography. In: Lomolino, M. V; Heaney, L. R. (Eds.). *Frontiers of biogeography new directions in the geography of nature*. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates. v. 307, p. 1879.
- LOURENÇO, L.B.; TARGUETA, C.P.; BALDO, D.; NASCIMENTO, J.; GARCIA, P. C.A.; ANDRADE, G.V.; HADDAD, C.F.B. & RECCO-PIMENTEL, S.M., (2015). Phylogeny of frogs from the genus *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) inferred from mitochondrial and nuclear gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **92** (2015) 204-216.
- LOURENÇO, A.C.C.; LINGNAU, R.; HADDAD, C.F. & FAIVOVICH, J. (2019). A New species of the *Scinax catharinae* group (Anura: Hylidae) from the highlands of Santa Catarina, Brazil. *South American Journal of Herpetology*, **14(3)**: 163-176.
- LOYOLA R.D.; BECKER C.G.; KUBOTA U.; HADDAD C.F.B. & FONSECA C.R., (2008). Hung out to dry: choice of priority ecoregions for conserving threatened Neotropical anurans depends on life-history traits. *PLoS One* **3(5)**: e 2120.
- LUTZ, B. (1973). Brazilian Species of *Hyla*. *University of Texas Press*, Austin & London. 260p.
- LYNCH J.D. (1970). Systematic status of the American leptodactylid frog genera *Engystomops*, *Eupemphix* and *Physalaemus*. *Copeia* **1970**: 488–496
- MACE, G.M., (2004). The role of taxonomy in species conservation. Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, *Biological sciences*, v. **359**, n. March, p. 711-719.
- MALLERET, M. M., FREIRE, M. D., LEMES, P., BRUM, F. T., CAMARGO, A., & VERRASTRO, L., (2022). Phylogeography and species delimitation of the Neotropical frog complex (Hylidae: *Scinax granulatus*). *Zoologica Scripta*, **51(3)**, 330-347.
- MARGULES, C.R. & PRESSEY, R.L., (2000). Systematic conservation planning. *Nature*, v. **405**, n. 6783, p. 243-253.
- MORELLATO, L. P. C., & HADDAD, C. F., (2000). Introduction: The Brazilian Atlantic Forest. *Biotropica*, **32(4b)**, 786-792.
- NASCIMENTO, L.B.; CARAMASCHI, U. & CRUZ, C.A.G., (2005). Taxonomic review of the species groups of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 with the revalidation of the genera *Engystomops* Jiménez-De La-Espada, 1872 and *Eupemphix* Steindachner, 1863 (Amphibia Anura, Leptodactylidae). *Arquivos do Museu Nacional* **63 (2)**: 297-320.
- NORI, J., & LOYOLA, R., (2015). On the worrying fate of data deficient amphibians. *PLoS One*, **10(5)**, e0125055
- NOVAES-E-FAGUNDES, G., K. ARAUJO-VIEIRA, O. M. ENTIAUSPE, NETO, I. J. ROBERTO, V. G. D. ORRICO, M. SOLÉ, C. F. B. HADDAD, AND D. LOEBMANN. (2021). A new species of *Scinax* Wagler (Hylidae: Scinaxini) from the tropical forests of northeastern Brazil. *Zootaxa* **4903**: 1–41
- NUNES, I. & POMBAL JR., J.P. (2010). A new *Scinax* Wagler (Amphibia, Anura, Hylidae) from the Atlantic Rain Forest remains of southern State of Bahia, North-eastern Brazil. *Amphibia Reptilia*, **31(3)**: 347-353.
- PADIAL, J. M., & DE LA RIVA, I., (2006). Taxonomic inflation and the stability of species lists: the perils of ostrich's behavior. *Systematic Biology*, **55(5)**, 859-867.

- PADIAL, J.M., (2010). The integrative future of taxonomy. *Frontiers in zoology*, v. 7, n. 1, p. 16.
- PEIXOTO, O. L. (1987). Caracterização do grupo *perpusilla* e revalidação da posição taxonômica de *Oloolygon perpusilla perpusilla* e *Oloolygon perpusilla v-signata* (Amphibia, Anura, Hylidae). *Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro*, **10(1-2)**, 37-49.
- PELOSO, P. L. V.; FAIVOVICH, J.; GRANT, T.; GASPARINI, J. L. & HADDAD, C.F.B., (2012). An extraordinary new species of *Melanophryniscus* (Anura, Bufonidae) from southeastern Brazil. *American Museum novitates*, **2012** 3762: 1-31.
- PEZZUTI, T. L., LEITE, F. S. F., ROSSA-FERES, D. D. C., & GARCIA, P. C. A., (2021). The tadpoles of the Iron Quadrangle, Southeastern Brazil: a baseline for larval knowledge and anuran conservation in a diverse and threatened region. *South American Journal of Herpetology*, **22(sp1)**, 1-107.
- PIE, M. R., STRÖHER, P. R., BELMONTE-LOPES, R., BORNSCHEIN, M. R., RIBEIRO, L. F., FAIRCLOTH, B. C., & MCCORMACK, J. E., (2017). Phylogenetic relationships of diurnal, phytotelm-breeding *Melanophryniscus* (Anura: Bufonidae) based on mitogenomic data. *Gene*, **628**, 194-199.
- POMBAL JR., J.P.; BASTOS, R.P. & HADDAD, C.F.B. (1995). Vocalizações de algumas espécies do gênero *Scinax* (Anura, Hylidae) do sudeste do Brasil e comentários taxonômicos. *Naturalia*, **20**: 213-225
- POMBAL JR, J. P., & GORDO, M. (1991). Duas novas espécies de *Hyla* da Floresta Atlântica no estado de São Paulo (Amphibia, Anura). *Mem. Inst. Butantan*, **53(11)**, 135-144.
- PRIMACK, R.B. & RODRIGUES, E. (2001). Biologia da Conservação. Londrina. *Planta* 328p.
- PROJETO MAPBIOMAS – Coleção 2022 da série **Anual de Mapas de Cobertura e Uso do Solo do Brasil**, acessado em outubro de 2022 através do link: <http://brasil.mapbiomas.org>
- PYRON, R. A., & WIENS, J. J. (2011). A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molecular phylogenetics and Evolution*, **61(2)**, 543-583.
- RON, S.R.; SANTOS, J.C. & CANNATELLA, D.C. (2006). Phylogeny of the túngara frog genus *Engystomops* (*Physalaemus pustulosus* species group; Anura: Leptodactylidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **39 (2)**: 392-403.
- ROSSA-FERES, D. D. C., GAREY, M. V., CARAMASCHI, U., NAPOLI, M. F., NOMURA, F., BISPO, A. A., ... & CONTE, C. E., (2017). Anfíbios da Mata Atlântica: lista de espécies, histórico dos estudos, biologia e conservação. *Revisões em Zoologia: Mata Atlântica*, **1**, 237-314.
- ROSSET, S. D., FADEL, R. M., DA SILVA GUIMARÃES, C., CARVALHO, P. S., CERON, K., PEDROZO, M., ... & MÂNGIA, S. (2021). A New Burrowing Frog of the *Odontophrynus americanus* Species Group (Anura, Odontophrynidae) from Subtropical Regions of Argentina, Brazil, and Paraguay. *Ichthyology & Herpetology*, **109(1)**, 228-244.

SEGALLA, M. V., BERNECK, B., CANEDO, C., CARAMASCHI, U., CRUZ, C. A. G., GARCIA, P. C., ... & LANGONE, J. A., (2021). List of Brazilian amphibians. *Herpetologia Brasileira*, **10**(1), 121-216.

STUART, S.N., HOFFMANN, M., CHANSON, J.S., COX, N.A., BERRIDGE, R.J., RAMANI, P., AND YOUNG, B.E. (EDS.) (2008). Threatened Amphibians of the World. **Lynx Edicions, Barcelona, Spain; IUCN, Gland, Switzerland; and Conservation International, Arlington, Virginia, USA**

TABARELLI, M., & GASCON, C., (2005). Lessons from fragmentation research: improving management and policy guidelines for biodiversity conservation. *Conservation biology*, **19**(3), 734-739.

VERDADE, V. K., VALDUJO, P. H., CARNAVAL, A. C., SCHIESARI, L., TOLEDO, L. F., MOTT, T., ... & SILVANO, D. L. (2012). A leap further: the Brazilian amphibian conservation action plan. *Alytes*, **29**(1-4), 28-43.

WILSON, E. O. & FRANCES, M. P. (1997) (Org.). Biodiversidade. Rio de Janeiro: *Nova Fronteira*, 2.

ZANK, C., (2012). Anfíbios anuros da ecorregião savana uruguaia: composição, distribuição e conservação. **Tese, Universidade Federal do Rio Grande do Sul**. 168 p.

ZANK C., BECKER F.G., ABADIE M., BALDO D., MANEYRO R., BORGES-MARTINS M., (2014). Climate change and the distribution of neotropical red-bellied toads (*Melanophryniscus*, Anura, Amphibia): How to prioritize species and populations? *PLoS One* **9**(4): e94625. [https:// doi.org/10.1371/journal.pone.0094625](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094625)

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Atualizar o conhecimento da riqueza, composição e distribuição das espécies de anfíbios do Rio Grande do Sul, incluindo propor a retirada de espécies de anfíbios da lista do estado, descrever duas novas espécies (*Scinax* e *Physalaemus*), documentar novos registros de ocorrência de duas espécies da família Hylidae (*D. elegans* e *S. imbegue*) e caracterizar de aspectos da história natural com a descrição da morfologia externa do girino de *Melanophryniscus dorsalis*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Capítulo 1

Realizar a atualização do conhecimento da riqueza, composição e distribuição sobre as espécies de anfíbios do Rio Grande do Sul. Adicionalmente, também verificar os padrões de distribuição das espécies em relação aos distintos biomas e fitofisionomias associadas. De forma complementar, elencar aquelas espécies de potencial ocorrência para o estado do Rio Grande do Sul, e adotar a categorização do status de conservação das espécies no âmbito regional, nacional e mundial para as espécies do estado, além de indicar aquelas espécies ainda não avaliadas quanto ao seu status de conservação. Por fim, propomos oito áreas com baixa densidade de amostragens de anfíbios localizadas nos biomas Pampa e Mata Atlântica no estado do Rio Grande do Sul e discutimos o uso do solo, vegetação original e remanescente e também a presença e representatividade (ou não) de Unidades de Conservação nestas áreas.

Capítulo 2

Realizar uma ampla revisão bibliográfica, consulta em banco de dados de coleções do estado e a especialistas e curadores de coleções científicas, visando buscar informações a fim de atualizar do status de ocorrência geográfica para algumas espécies, que devido à falta de investigação recentes, devem ser propostas para serem retiradas da lista de espécies do Rio Grande do Sul.

Capítulo 3

Registrar a nova ocorrência de duas espécies de anuros da Família Hylidae para áreas da Floresta Atlântica no nordeste do estado do Rio Grande do Sul, sendo elas, as pererecas *Dendropsophus elegans* e *Scinax imbegue*, com a elaboração de mapa de distribuição geográfica dos táxons.

Capítulo 4

Nomear e descrever táxon como uma nova espécie de anuro do gênero *Physalaemus* do grupo de *P. henselii* para a Mata Atlântica do sul do Brasil, com base no estudo da morfologia de adultos e girinos, canto de anúncio, sequências de DNA e uso de habitat. Adicionalmente, realizar ampla comparação entre a nova espécie e demais espécies descritas para o gênero *Physalaemus*.

Capítulo 5

Descrever uma nova espécie de anuro do gênero *Scinax* do clado *ruber*, relacionada a espécie *Scinax granulatus* da Mata Atlântica dos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, com base na aplicação de taxonomia integrativa na morfologia e morfometria de adultos e girinos, e análise bioacústica. Adicionalmente, realizar ampla comparação entre a nova espécie e demais espécies descritas dentro do clado *ruber*.

Capítulo 6

Descrever a morfologia externa do girino de *Melanophryniscus dorsalis*, espécie ameaçada de sapo-de-barriga-vermelha da família Bufonidae e comparar com a literatura atualmente disponível contendo descrições da morfologia de girinos do gênero *Melanophryniscus*.

CAPÍTULO I

Estado atual do conhecimento dos anfíbios do Rio Grande do Sul

Marcelo D. Freire ¹, Iberê F. Machado ², Laura Verrastro ¹

¹ - Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós Graduação em Biologia Animal – UFRGS; (mduartefreire@gmail.com)

² - Instituto Boitatá de Etnobiologia e Conservação da Fauna, Goiânia, Brasil

ABSTRACT. The knowledge status of amphibians of Rio Grande do Sul state, southern Brazil. In the present study, we updated the current knowledge status regarding the amphibian species richness and composition of the Rio Grande do Sul state. Our results indicate a current richness of 118 amphibian species for the state belonging to 15 families, with the families Hylidae, Leptodactylidae, and Bufonidae representing 59% of the total species in the state. Additionally, we verify the species distribution patterns in relation to the different biomes and phytophysionomies of the Atlantic Forest. Complementarily, we listed 20 species of potential occurrence for the state and adopt the categorization of the conservation status of the species at the regional, national, and global levels, also indicating those species not yet evaluated in terms of their conservation status.

Keywords: Pampa; Atlantic Forest; species diversity; species richness; Conservation

RESUMO

No presente estudo, atualizamos o estado atual do conhecimento sobre a riqueza e composição de espécies de anfíbios do estado do Rio Grande do Sul. Nossos resultados indicam uma riqueza atual de 118 espécies de anfíbios para o estado pertencentes a 15 famílias, com as famílias Hylidae, Leptodactylidae e Bufonidae representando 59% do total de espécies do estado. Adicionalmente, verificamos os padrões de distribuição das espécies em relação aos diferentes biomas e fitofisionomias da Floresta Atlântica. Complementarmente, listamos 20 espécies de ocorrência potencial para o estado e adotamos a categorização do estado de conservação das espécies em nível regional,

nacional e global, indicando também aquelas espécies ainda não avaliadas quanto ao seu estado de conservação.

Palavras-chaves: Pampa; Mata Atlântica; diversidade de espécies; riqueza de espécies; Conservação

Introdução

Ao longo dos últimos séculos, as atividades humanas relacionadas a destruição e fragmentação de habitats, poluição, agricultura em larga escala, expansão de espécies invasoras e patógenos, entre outras questões, tem causado uma catastrófica perda da biodiversidade planetária (*e.g.*, HUGHES ET AL. 1997; BROOKS ET AL. 2006). Esta perda de biodiversidade tem sido nomeada “crise na Biodiversidade” e considerada uma das principais problemáticas sociais e ambientais do século 21 (WILSON & FRANCES, 1997). Estas ações antropogênicas estão ligadas ao sexto evento de extinção, um declínio acelerado da diversidade biológica, com estimativas atuais apontando para taxas entre 100 e 1000 vezes superiores as ocorridas anteriormente (CEBALLOS ET AL. 2010). Neste sentido, urge uma grande necessidade da compreensão sobre a biodiversidade do planeta, criando demandas para a implementação de estratégias que maximizem esforços em conservação, antes que mais espécies sejam extintas (MARGULES & PRESSEY, 2000; PRIMACK & RODRIGUES, 2001; PADIAL, 2010).

Lista de espécies ou “checklist” são valorosas ferramentas no reconhecimento da biodiversidade, sendo fundamentais no planejamento de ações de conservação (MACE, 2004; PADIAL & DE LA RIVA, 2006 GARNETT ET AL. 2020). Listas devem ser foco de constantes atualizações, devido às suas características intrínsecas (*e.g.* resoluções taxonômicas, revalidações de espécies) e dinâmicas de fluxo de informações biológicas (*e.g.* estudos genéticos, história natural), sendo incrementadas basicamente através da

obtenção de dados acerca da distribuição geográfica das espécies e/ou identificação de novos táxons, associadas a revisões em coleções científicas, principalmente em áreas remotas ou não amostradas (*e.g.*, PADIAL & DE LA RIVA, 2006; JANSEN ET AL. 2011; VERDADE ET AL. 2012; HORTAL ET AL. 2015). Ainda mais, além proporcionarem dados básicos sobre a riqueza, composição, e padrão de distribuição das espécies, listas atuam diretamente no subsídio para a promoção da categorização do status de conservação das espécies, identificação de ameaças e escolha e implementação de áreas para conservação da biodiversidade, notadamente importantes para aquelas espécies raras, ameaçadas e/ou insuficientemente conhecidas (HEYER ET AL. 1994; MACE, 2004; PADIAL & DE LA RIVA, 2006; STUART ET AL. 2008; PADIAL, 2010; GARNETT ET AL. 2020).

O Brasil é o país que detém a maior diversidade de espécies de anfíbios no mundo (1188 espécies), com aproximadamente 1144 anuros (SEGALLA ET AL. 2021). Embora tenha a maior diversidade, grande parte das informações utilizadas em estudos integrativos abordando conjuntamente taxonomia, distribuição geográfica e análise molecular, bem como aspectos da história natural de substancial parte das espécies (*i.e.*, descrição de vocalizações e morfologia de girinos), permanecem desconhecidos e amplamente subestimados (*e.g.*, GUERRA ET AL. 2018; GUERRA ET AL. 2020; PEZZUTI ET AL. 2021).

Em uma escala regional de diversidade, até o momento são indicadas para o estado do Rio Grande do Sul aproximadamente 108 espécies de anfíbios (*e.g.*, BRAUN & BRAUN 1980; COLOMBO ET AL. 2007; COLOMBO ET AL. 2010; LIVE, 2014; FREIRE ET AL. 2016; BALDO ET AL. 2019; ROSSET ET AL. 2021), com estudos e inventários nos últimos anos incrementando o conhecimento da riqueza e composição de espécies do Estado, principalmente através de inúmeros novos registros (*e.g.*, COLOMBO ET AL. 2007, IOP ET AL. 2011; ZANK, ET AL. 2013), descrição de espécies (KWET, 2008; DI-BERNARDO ET AL.

2006), e mais recentemente, por intermédio de revisões taxonômicas e estudos filogenéticos de famílias, gêneros e grupos de espécies (*e.g.*, BALDO ET AL. 2019; FAIVOVICH ET AL. 2021; ROSSET ET AL. 2021). Apesar disso, atualmente acredita-se que a diversidade de espécies de anfíbios no estado do Rio Grande do Sul ainda se encontra subestimada.

Exemplo disso, é que explorando a relação do incremento de espécies no Estado (*i.e.*, novos registros de ocorrência e/ou novas espécies descritas) ao longo das quatro últimas décadas (1980-2022), observamos que a riqueza de espécies atualmente conhecida praticamente dobrou desde BRAUN & BRAUN (1980) até hoje (com substancial incremento de espécies para áreas da Floresta Atlântica), demonstrando uma taxa média de 1.6 novas espécies/ano (ou aprox. 16 espécies/década), e curva de acumulação de espécies ainda não indicando uma tendência à estabilização.

Este fato sugere, que o conhecimento da diversidade de espécies de anfíbios no Rio Grande do Sul encontra-se incompleto, em pleno fluxo de desenvolvimento e que novas ocorrências e novas espécies ainda são esperadas para o estado, à medida que estudos taxonômicos e amostragens em áreas ainda não amostradas sejam intensificadas.

Neste contexto, o presente estudo tem como objetivo a atualização do conhecimento da riqueza e composição das espécies de anfíbios do estado do Rio Grande do Sul, sul do Brasil. Dito isso, este estudo dará ênfase em: a) atualização da lista de espécies regional b) verificar os padrões de distribuição das espécies em relação aos distintos biomas, e fitofisionomias vegetais da região da Floresta Atlântica, c) elencar espécies de potencial ocorrência para o estado, e e) abordar o status de conservação atual das espécies no âmbito regional, nacional e mundial, e indicar aquelas espécies ainda não avaliadas quanto ao seu status de conservação.

Material e Métodos

Para a elaboração da lista de espécies que ocorrem no estado do Rio Grande do Sul (RS) utilizamos como base de pesquisa dados primários e secundários, incluindo artigos científicos, teses e dissertações e livros. Foram consultadas as seguintes bases de dados acadêmicos: Web of Science, Google Acadêmico e Scielo, JCR, Zoological Records e Biological Records, bem como, bancos de dados disponíveis *on line* (coleções e museus de história natural) (ex: www.iucnredlist.org; <http://www.splink.org.br>; <http://www.inaturalist.org/>; <http://www.mip.berkeley.edu/mvz/index.html>; <http://www.gbif.org>), até dezembro de 2022. A pesquisa considerou combinados os seguintes termos ou palavras-chave: “amphibians”, “anfíbios”, “anurans”, “anuros”, “bioma Mata Atlântica”, “Atlantic Forest biome”, “Atlantic Forest”, “Floresta Atlântica”, “bioma Pampa”, “Pampa biome”, “grasslands”, “campos”. Desta forma, criamos um banco de dados abrangendo as espécies de anfíbios com distribuição associada ao bioma Pampa e Mata Atlântica do RS ou com potencial ocorrência no Estado, sendo pesquisadas e compiladas as seguintes informações: a) descrição das espécies (ano de descrição, autor e sinônimas) e b) distribuição geográfica (distribuição no RS, demais estados brasileiros e países vizinhos) e, coordenadas geográficas dos registros de ocorrência para o RS.

De forma complementar, realizamos consultas a coleções científicas do estado: Coleção de Anfíbios do Museu de Ciência e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – MCT-PUCRS, Coleção Herpetológica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS e Coleção de Anfíbios do Museu de Ciências Naturais da Secretaria de Meio Ambiente e Infraestrutura do Rio Grande do Sul – MCN-SEMA) e de forma pontual, junto a outras coleções de anfíbios de instituições brasileiras

(Coleção de anfíbios da UFMG - Universidade Federal de Minas Gerais; Coleção de Anfíbios CFBH – Célio Fernando Haddad - UNESP Rio Claro, São Paulo). Adicionalmente, foram obtidas informações de registros de ocorrência proveniente de dados pessoais não publicados e de trabalhos realizados e/ou em andamento por pesquisadores e parceiros/colaboradores, e ocasionalmente, consultas no website speciesLink para obtenção de informações de registros de algumas espécies de interesse. A nomenclatura adotada para espécies, gêneros e famílias seguem SEGALLA ET AL. (2021) e FROST (2023).

Para a elaboração da lista não consideramos espécies não identificadas ou ainda não descritas e citadas na literatura e/ou obtidas em coleções científicas e mencionadas como: “sp.”, “gr.”, “aff.”, e “cf.”. Entendemos que este procedimento evita “inchar” a lista regional de espécies, com espécies indeterminadas que podem ou não representar novos táxons, prevenindo assim, questões ou problemas taxonômicos associados a algumas espécies. Apesar disso, decidimos incluir três espécies em processo de descrição que possuem status taxonômico confirmado, sendo taxonomicamente distintas de acordo com evidências obtidas na nossa pesquisa, sejam informações disponíveis na literatura e/ou identificadas através de nossos dados pessoais (i.e., morfologia do adulto e/ou girino, canto de anúncio). Estas espécies apresentam comprovada distribuição no estado do RS, e serão tratadas na seção Comentários taxonômicos.

Com base no banco de dados dos registros compilados (coordenadas geográficas – DATUM WGS 84), geramos mapas de registros de ocorrências das espécies de anfíbios para o RS através do programa Quantum GIS ver. 1.8.0 (Quantum GIS Development Team, 2012). Estes mapas identificaram os dois biomas presentes no Estado (Pampa e Mata Atlântica), segundo IBGE (2019), associados a presença de Unidades de Conservação municipais e estaduais (SEMA, 2023) e federais (ICMBIO, 2023).

Para a riqueza e composição das espécies de anfíbios foram consideradas as ocorrências nos biomas Pampa e Mata Atlântica no RS, e de forma adicional, obtivemos informações sobre a diversidade das espécies em relação as fitofisionomias vegetais para a Floresta Atlântica dentro do Estado, sendo elas: Floresta Estacional (FES), Floresta Ombrófila Mista (FOM), Floresta Ombrófila Densa (FOM) e Restinga Costeira (RES). As fitofisionomias ou sistemas ecológicos de vegetação que compõe o bioma Pampa previstas em HASENACK ET AL. (2010), já foram previamente tratadas em ZANK (2012) para anfíbios da Savana Uruguaia. Desta forma, não serão abordadas no presente estudo devido à alta correspondência na composição de espécies entre a Savana Uruguaia e a área do bioma Pampa brasileiro, com as únicas exceções relacionadas as espécies *Physalemus fernandezae* e *Nictimantis siemersii* (ZANK, 2012; ALVARES ET AL. 2022).

Classificamos as espécies do estado do RS também de acordo com as suas distribuições conhecidas no Brasil e países vizinhos (Argentina, Uruguai e Paraguai) em categorias de padrões de distribuição, como segue: Distribuição ampla (diversos estados brasileiros e países vizinhos ao RS); Região sul/sudeste (distribuição preponderante entre a região sul e sudeste do Brasil, alcançando o RS); Região Sul do Brasil (espécies ocorrentes nos três estados da região – Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná); Região Sul e países vizinhos (estados da região sul e distribuição em países vizinhos); Rio Grande do Sul e países vizinhos (distribuição no estado e alcançando países vizinhos); Distribuição endêmica (espécies com ocorrência somente no estado) (Anexo 1).

Adotamos as avaliações do status de conservação das espécies de anfíbios utilizando as listas de espécies ameaçadas, respeitando os âmbitos estadual (LIVE, 2014), nacional (BRASIL, 2022; ICMBIO, 2023) e global (IUCN, 2022). Nas classificações dos diferentes âmbitos foram utilizadas as mesmas categorias de ameaça: Criticamente em

Perigo (CR), Em Perigo (EN), Vulnerável (VU). Adicionalmente, consideramos também aquelas espécies nas categorias quase ameaçada (NT) e dados deficientes (DD).

Algumas espécies a partir do conhecimento atual, representam um seletivo grupo de anfíbios de potencial ocorrência futura no estado do Rio Grande do Sul, sendo escolhidas por apresentarem distribuição em áreas próximas e limítrofes ao estado (*i.e.* estado, de Santa Catarina na fronteira nordeste e norte, Argentina a oeste e o Uruguai ao sul). Neste sentido, elencamos um conjunto de 20 espécies que ocupam ambientes abertos e florestais e que ocorrem a uma distância relativamente pequena da fronteira do RS, utilizando como critério de recorte geográfico para seleção destas espécies, distância não superiores a 100 km do limite do estado. Adotamos OLSON ET AL. (2001), considerando as ecorregiões da Floresta Atlântica da Serra do Mar (FAT), Floresta de Araucária (FAA), Floresta de Interior Paraná/Parnaíba (FAI), Savana Uruguaia (SUR), Campos Mesopotâmicos (CMe) e Espinhal, (ESP), e organizamos as espécies potenciais em três grupos de áreas, conforme segue: Fronteira norte-nordeste do RS, limítrofe ao estado de Santa Catarina e subdivididas em, *i*) espécies da fronteira nordeste (FAT) e *ii*) fronteira norte associada ao Planalto Meridional (FAT e FAA); Fronteira oeste do RS associada as províncias argentinas de Corrientes e Misiones, Argentina (FAI, CMe, ESP); e Fronteira Sul do RS, com o departamento de Rocha, Uruguai (SUR). Por fim, baseada nos dados e informações compiladas junto a literatura, atribuímos categorias arbitrárias de potencial ocorrência destas espécies no estado, onde: a) espécies de alta probabilidade, correspondem a espécies de ampla distribuição, com registros de ocorrência próximo à fronteira do estado, consideradas abundantes em estados/ecorregiões vizinhas, e não ameaçadas em seus países ou em estados brasileiros; b) espécies de média probabilidade, são espécies incomuns, consideradas ameaçadas e/ou com distribuição geográfica restrita; c) espécies de baixa probabilidade, são espécies raras e/ou ameaçadas ou dados deficientes (DD) em

seus países/estados de origem, e/ou conhecidas de poucos exemplares em coleções científicas e sem registros conhecidos recentes.

Resultados e Discussão

a. Diversidade de espécies

Nossos resultados indicaram que atualmente ocorrem 118 espécies de anfíbios no estado do Rio Grande do Sul (RS), nas ordens Anura (114 espécies) e Gymnophiona (4 espécies). Entre os Anuros as espécies são pertencentes a 15 famílias: Hylidae (46 espécies), Leptodactylidae (23), Bufonidae (21), Odontophrynidae (6), Microhylidae (3), Phyllomedusidae (3), Ceratophryidae (2), Hylodidae (2), Cycloramphidae (2), Hemiphractidae (1), Alsodidae (1), Centrolenidae (1), Craugastoridae (1), Brachycephalidae (1), Ranidae (1); já Gymnophiona em duas famílias, Typhlonectidae (1) e Siphonopidae (3) (Figura 1, Tabela 1 e Anexo 1). Deste total, destacamos três espécies que representam novos registros de ocorrência para o RS (*Dendropsophus elegans*, *Scinax imbegue* e *Bokermannohyla hylax*), incluindo duas espécies ainda não descritas (*Physalaemus* sp. nov. e *Scinax* sp. nov), além de um espécime de *Ceratophrys aurita* que representa uma redescoberta para o Estado através de verificação de registro histórico (veja *Novos registros de ocorrência* e Seção Comentários Taxonômicos).

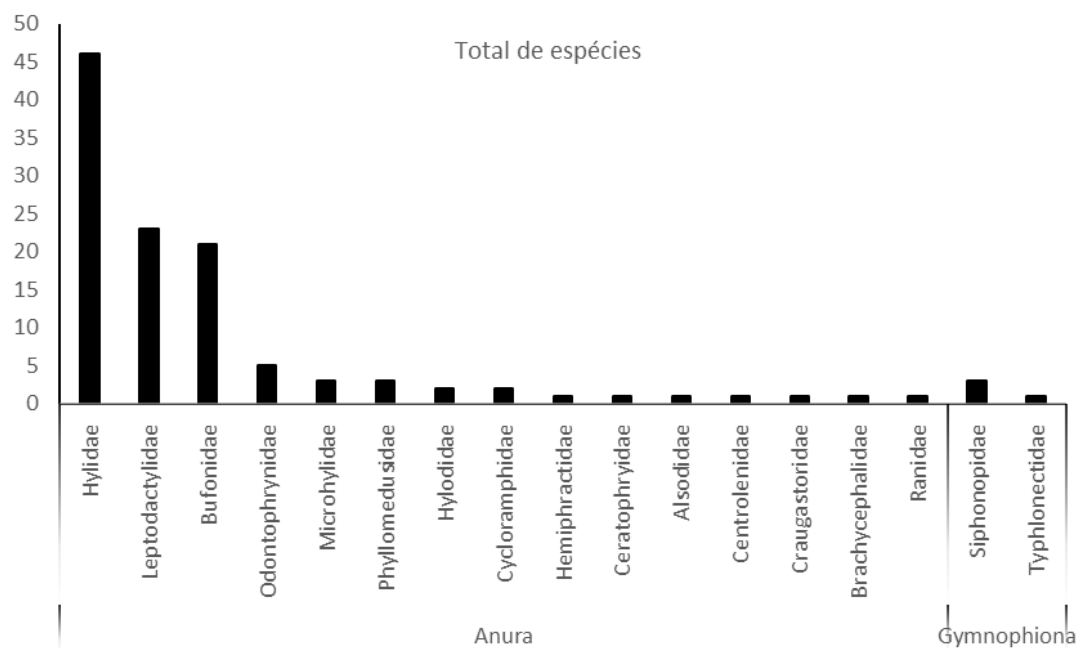


Figura 1. Gráfico demonstrando a representatividade da riqueza de espécies em cada família de anfíbio no estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

A família Hylidae apresentou a maior riqueza de espécies (46 espécies, 39.3 % do total), seguida pela família Leptodactylidae (23 espécies, 20 % do total) e Bufo (21 espécies, 18 % do total), enquanto que espécies nas famílias Alsodidae, Brachycephalidae, Centrolenidae, Craugastoridae, Hemiphractidae, Typhlonectidae e Ranidae, mostraram-se as menos diversas em espécies com somente uma espécie cada (0.86 % do total) (Figura 1). Os gêneros mais diversos em espécies foram *Scinax* (15 espécies, 13 % do total), *Boana* (13 espécies, 11.3%) e *Melanophryniscus* (12 espécies, 10.4%), seguido pelos gêneros *Leptodactylus* (11 espécies, 9.5% do total), *Physalaemus* (9 espécies, 7.8 %) e *Rhinella* (8 espécies, 6.9%), com o somatório da riqueza de espécies contidas nestes gêneros representando 59.1% do total de espécies conhecidas para o estado.

Podemos mencionar também algumas espécies com distribuição no estado do RS que se encontram em processo de descrição/validação, e futuramente farão parte da lista

regional, e, portanto, não foram incluídas na presente lista. Destacamos duas espécies do gênero *Physalaemus* associadas a *P. gracilis* que ocorrem no bioma Pampa, *Physalaemus aff. gracilis* “clado Sul 1” e *Physalaemus aff. gracilis* “clado sul 2” (ALVES, 2019), além de uma espécie de anuro do gênero *Proceratophrys* (*Proceratophrys* sp. nov.; K. Seger, comun. pessoal), associada a Floresta Atlântica do RS.

A composição taxonômica das espécies de anfíbios do Rio Grande do Sul reflete um padrão de diversidade e composição já amplamente documentado na literatura para áreas Neotropicais, e relacionada a uma grande riqueza de espécies na família Hylidae, Leptodactylidae e Bufonidae, que representaram juntas aproximadamente 76 % (90 spp.) do total de espécies do estado (e.g., DUELMANN, 1988; VASCONCELOS ET AL. 2019). A família Bufonidae com relativa diversidade de espécies na região Neotropical e Subtropical (Pramuk, 2006; Amphibiaweb, 2022), foi a terceira em número de espécies (21 spp.), com importante destaque para a riqueza de espécies no gênero *Melanophryniscus*. Ocorrem no Rio Grande do Sul aproximadamente 40 % (12 spp.) de todas as espécies de *Melanophryniscus* válidas (31 spp.), posicionando o estado como importante área de diversidade do gênero (ZANK ET AL. 2014; BALDO ET AL. 2014). Apesar disso, o gênero *Melanophryniscus* é carente de um estudo filogenético amplo, associado a lacunas de conhecimento na distribuição de diversas espécies, algumas delas conhecidas de poucas localidades (*M. simplex*, COLOMBO ET AL. 2007; *M. macrogranulosus*, CAORSI ET AL. 2014; *M. sanmartini*; ZANK ET AL. 2013), além de novas espécies ainda para serem descritas, o que indica uma substancialmente mudança no nível de conhecimento da diversidade de espécies no gênero futuramente, com reflexos na diversidade de espécies do Rio Grande do Sul (e.g., ZANK ET AL. 2014; BALDO ET AL. 2014; CAORSI ET AL. 2020).

O estado do Rio Grande do Sul abriga poucas espécies representativas das famílias Brachycephalidae (*Ischnocnema henselii*), Hylodidae (*Hylodes meridionalis* e

Crossodactylus schimidti) e Cycloramphidae (*Thoropa saxatilis* e *Cycloramphus valae*), reconhecidos gêneros neotropicais com elevada diversidade de espécies no bioma Mata Atlântica (ROSA-FEREZ ET AL. 2018; VASCONCELOS ET AL. 2019; SEGALLA ET AL 2021). Uma hipótese explanatória desta ausência pode estar associada ao fato de que estas famílias e gêneros possuem centros de origem e dispersão a partir da Floresta Atlântica do sudeste do Brasil, sobretudo na Serra do Mar (HEYER, 1983; BRUSQUETTI ET AL. 2013; SABBAG ET AL. 2018; MALAGOLI, 2018; TAUCCE ET AL. 2018). Além disso, somasse ao fato da reconhecida pouca representatividade do bioma Mata Atlantica no Rio Grande do Sul, que contém uma extensão de área muito pequena distribuída em poucos remanescentes florestais, e principalmente, por representar o limite sul da distribuição do Domínio da Floresta Atlantica no Brasil (e.g., MORELLATO & HADDAD, 2000; CASTRO & MELLO, 2013).

Estas questões, provavelmente, resultaram em uma baixa riqueza de espécies para estes e outros gêneros (i. e. *Aplastodiscus*, *Bokermannohyla* e *Adenomera*), com algumas espécies amplamente distribuídas na Floresta Atlantica apresentando o seu limite meridional ou sendo de distribuição marginal no Estado (e.g., *Phyllomedusa distincta*, *Haddadus binotatus*).

Novos registros de ocorrência

Reportamos aqui brevemente os novos registros de ocorrência de três espécies para o estado do Rio Grande do Sul (*Dendropsophus elegans*, *Scinax imbegue* e *Bokermannohyla hylax*). A espécie *Dendropsophus elegans* (Figura 2A) foi tratada em estudos prévios com diferentes enfoques, entre eles, refúgios da Mata Atlântica (PORTO ET AL. 2013), filogeografia (TONINI ET AL. 2013) e biogeografia (PIRANI ET AL. 2020), que

já indicavam a ocorrência potencial desta espécie para o extremo sul da Mata Atlântica (Rio Grande do Sul).

Adicionalmente, o trabalho de TONINI ET AL. (2013) também menciona a ocorrência de *D. elegans* para o estado do Rio Grande do Sul, mas sem material de referência ou citação na literatura que possibilitasse validar o registro da espécie. Espécie considerada comum, ocorrendo tanto em florestas quanto em áreas abertas, e de ampla distribuição na Floresta Atlântica brasileira (Paraíba até o sul do estado de Santa Catarina) (BASTOS & HADDAD, 1995; BASTOS & HADDAD, 1996; HADDAD ET AL. 2013; FROST, 2023). Atualmente está categorizada como de status de conservação “preocupação menor” (LC), com suas populações estáveis ao longo de sua distribuição (SLUYS ET AL. 2010; ICMBIO, 2022). Quatro indivíduos foram registrados em duas localidades na região nordeste do Estado do Rio Grande do Sul em áreas de Floresta Atlântica (Dom Pedro de Alcântara, Três Cachoeiras).

Scinax imbegue (Figura 2B) distribuiu-se na Floresta Atlântica desde o norte do estado de São Paulo até o centro-leste do estado de Santa Catarina (NUNES ET AL. 2012; HADDAD ET AL. 2013; FROST, 2023), sendo considerada comum em áreas de floresta semiaberta em ambientes de várzea e em encostas de planalto abaixo de 700 m acima do nível do mar (NUNES ET AL. 2012; HADDAD ET AL. 2013). Apesar de descrita só em 2012, esta espécie estava sendo confundida com táxons aparentados ao longo de sua distribuição (*i.e.*, *Scinax tymbamirim*) (NUNES ET AL. 2012), e sua presença no Estado era esperada. Quatro indivíduos foram registrados em somente uma localidade (município de Três Forquilhas) em área localizada na região nordeste do Estado, em ambiente de Floresta Atlântica.

O encontro de *Bokermannohyla hylax* (Figura 2C) no Rio Grande do Sul provavelmente representa um passo a mais na solução acerca de uma questão taxonômica antiga, envolvendo um registro histórico de uma espécie afim (*Bokermannohyla circumdata*; LUTZ, 1973; BRAUN & BRAUN, 1980), que foi considerada de precedência duvidosa quando da avaliação do status de conservação da espécie no Estado (LIVE, 2014) (*i.e.*, sem material testemunho indicado).

BRAUN & BRAUN (1980) cita *B. circumdata* (município de Gramado, região da Serra Gaúcha), baseado em informações de LUTZ (1973). Posteriormente, NAPOLI (2000) revisa o gênero, e menciona que não encontrou referência de material testemunho da espécie no Rio Grande do Sul mencionada por LUTZ (1973), nem qualquer outro registro adicional que indicasse a existência da espécie para o Estado. Recentemente, *Bokermannohyla hylax* tem sido encontrada no estado vizinho de Santa Catarina (CERON ET AL. 2016; CERON ET AL. 2017), em localidade que efetivamente faz limite com o estado (Praia Grande, Santa Catarina - UFMG 19163; MOSER ET AL. 2021). Os registros de ocorrências para o RS foram obtidos em duas localidades na região nordeste do estado, em áreas associadas à Floresta Atlântica (T. Kunz; P. Colombo; comun. pessoal).

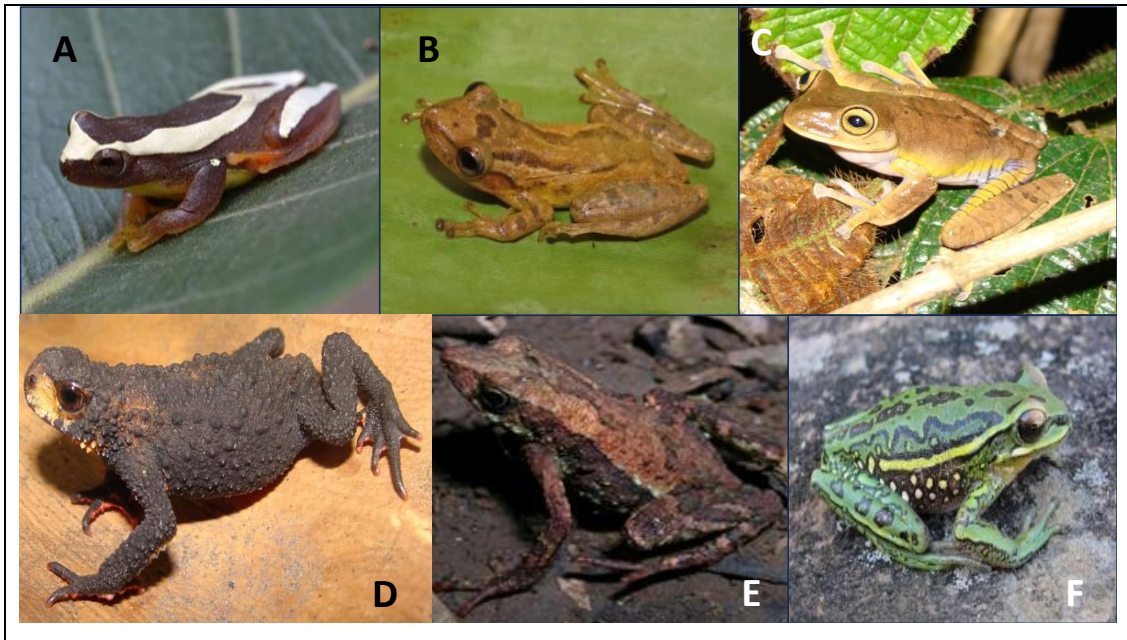


Figura 2. Anfíbios com distribuição no estado do Rio Grande do Sul: (A) *Dendropsophus elegans*, (B) *Scinax imbegue*, (C) *Bokermanohylla hylax*, (D) *Melanophryniscus* aff. *pachyrhynchus*, (E) *Dendrophryniscus krausae*, (F) *Boana* cf. *semiguttata*. Fotos: (A) G. L. Canella, (B) M. D. Freire, (C) T. Kunz, (D) I. B. Amaral, (E) P. Colombo, (F) M. D. Freire.

Tabela 1. Espécies de anfíbios do Rio Grande do Sul de acordo com a distribuição no bioma Pampa e Mata Atlântica, indicando aquelas endêmicas do Estado. Espécies em negrito representam novos registros de ocorrência, e espécies em sobescrito são espécies novas, ainda não descritas para o Rio Grande do Sul; * indica consultar Comentários taxonômicos.

Espécies	Mata Atlântica	Pampa	Espécies Endêmicas
ANURA			
HYLIDAE			
<i>Aplastodiscus perviridis</i> Lutz, 1950	X	X	-
<i>Dendropsophus elegans</i> (Wied-Neuwied, 1824)	X	-	-
<i>Dendropsophus microps</i> (Peters, 1872)	X	-	-
<i>Dendropsophus nanus</i> (Boulenger, 1889)	X	X	-
<i>Dendropsophus minutus</i> (Peters, 1872)	X	X	-
<i>Dendropsophus sanborni</i> (Schmidt, 1944)	X	X	-
<i>Dendropsophus weneri</i> (Cochran, 1952)	X	X	-
<i>Dendropsophus nahdereri</i> (Lutz and Bokermann, 1963)	X	-	-
<i>Boana albopunctata</i> (Spix, 1824)	X	X	-
<i>Boana bischoffi</i> (Boulenger, 1887)	X	-	-
<i>Boana caingua</i> (Carrizo, 1991)	X	X	-
<i>Boana curupi</i> (Garcia, Faivovich, and Haddad, 2007)	X	-	-
<i>Boana faber</i> (Wied-Neuwied, 1821)	X	X	-
<i>Boana guentheri</i> (Boulenger, 1886)	X	X	-
<i>Boana marginata</i> (Boulenger, 1887)	X	-	-
<i>Boana pulchella</i> (Duméril and Bibron, 1841)	X	X	-
<i>Boana leptolineata</i> (Braun and Braun, 1977)	X	-	-
<i>Boana joaquina</i> (Lutz, 1968)	X	-	-

<i>Boana prasina</i> * (Burmeister, 1856)	X	-	-
<i>Boana stellae</i> *(Kwet, 2008)	X	-	-
<i>Boana semiguttata</i> * (Lutz, 1925)	X	-	-
<i>Pseudis cardosoi</i> Kwet, 2000	X	-	-
<i>Pseudis minuta</i> Günther, 1858	X	X	-
<i>Lysapsus limellum</i> Cope, 1862	-	X	-
<i>Scinax berthae</i> (Barrio, 1962)	X	X	-
<i>Scinax aromothyella</i> Faivovich, 2005	X	X	-
<i>Scinax catharinae</i> (Boulenger, 1888)	X	-	-
<i>Scinax fuscovarius</i> (Lutz, 1925)	X	X	-
<i>Scinax granulatus</i> (Peters, 1871)	X	X	-
<u><i>Scinax</i> sp. nov. *</u>	X	-	-
<i>Scinax imbegue</i> Nunes, Kwet, and Pombal, 2012	X	-	-
<i>Scinax nasicus</i> (Cope, 1862)	X	X	-
<i>Scinax perereca</i> Pombal, Haddad, and Kasahara, 1995	X	-	-
<i>Scinax rizibilis</i> (Bokermann, 1964)	X	-	-
<i>Scinax squalirostris</i> (Lutz, 1925)	X	X	-
<i>Scinax fontanarrosai</i> Baldo, Araujo-Vieira, Cardozo, Borteiro, Leal, Pereyra, Kolenc, Lyra, Garcia, Haddad, and Faivovich, 2019	-	X	-
<i>Scinax uruguayus</i> (Schmidt, 1944)	X	X	-
<i>Scinax pinimus</i> (Bokermann and Sazima, 1973)	X	-	-
<i>Trachycephalus dibernardoii</i> Kwet and Solé, 2008	X	-	-
<i>Trachycephalus mesophaeus</i> (Hensel, 1867)	X	X	-
<i>Trachycephalus typhonius</i> (Linnaeus, 1758)	X	-	-
<i>Sphaenorhynchus surdus</i> (Cochran, 1953)	X	-	-

<i>Sphaenorhynchus caramaschii</i> Toledo, Garcia, Lingnau, and Haddad, 2007	X	-	-
<i>Bokermannohyla hylax</i> (Heyer, 1985)	X	-	-
<i>Itapotihyla langsdorffii</i> Duméril and Bibron, 1841	X	-	-
PHYLLOMEDUSIDAE			
<i>Phyllomedusa distincta</i> Lutz, 1950	X	-	-
<i>Phyllomedusa iheringii</i> Boulenger, 1885	-	X	-
<i>Phyllomedusa tetraploidea</i> Pombal and Haddad, 1992	X	-	-
LEPTODACTYLIDAE			
<i>Adenomera araucaria</i> Kwet and Angulo, 2002	X	-	-
<i>Leptodactylus gracilis</i> (Duméril and Bibron, 1840)	X	X	-
<i>Leptodactylus macrosternum</i> Miranda-Ribeiro, 1926	X	X	-
<i>Leptodactylus labyrinthicus</i> (Spix, 1824)	X	X	-
<i>Leptodactylus latinasus</i> Jiménez de la Espada, 1875	X	X	-
<i>Leptodactylus paranaru</i> Magalhães, Lyra, Carvalho, Baldo, Brusquetti, Burella, Colli, Gehara, Giaretta, Haddad, Langone, López, Napoli, Santana, de Sá, and Garda, 2020	X	-	-
<i>Leptodactylus luctator</i> (Hudson, 1892)	X	X	-
<i>Leptodactylus mystacinus</i> (Burmeister, 1861)	X	X	-
<i>Leptodactylus furnarius</i> Sazima and Bokermann, 1978	X	X	-
<i>Leptodactylus fuscus</i> (Schneider, 1799)	X	X	-
<i>Leptodactylus plaumanni</i> Ahl, 1936	X	-	-
<i>Leptodactylus podicipinus</i> (Cope, 1862)	X	X	-
<i>Physalaemus biligonigerus</i> (Cope, 1861)	X	X	-
<i>Physalaemus cuvieri</i> Fitzinger, 1826	X	X	-
<i>Physalaemus carrizorum</i> Cardozo and Pereyra, 2018	X	-	-
<i>Physalaemus gracilis</i> (Boulenger, 1883)	X	X	-

<i>Physalaemus henselii</i> (Peters, 1872)	X	X	-
<i>Physalaemus lisei</i> Braun and Braun, 1977	X	X	-
<i>Physalaemus nanus</i> * (Boulenger, 1888)	X	-	-
<i>Physalaemus riograndensis</i> Milstead, 1960	X	X	-
<u><i>Physalaemus</i> sp. nov.*</u>	X	X	-
<i>Pleurodema bibroni</i> * Tschudi, 1838	X	-	-
<i>Pseudopaludicola falcipes</i> (Hensel, 1867)	X	X	-
BRACHYCEPHALIDAE			
<i>Ischnocnema henselii</i> (Peters, 1870)	X	-	-
CRAUGASTORIDAE			
<i>Haddadus binotatus</i> (Spix, 1824)	X	-	-
BUFONIDAE			
<i>Rhinella ornata</i> (Spix, 1824)	X	-	-
<i>Rhinella azarai</i> (Gallardo, 1965)		X	-
<i>Rhinella achavali</i> (Maneyro, Arrieta, and de Sá, 2004)	X	X	-
<i>Rhinella arenarum</i> (Hensel, 1867)	X	X	-
<i>Rhinella dorbignyi</i> (Duméril and Bibron, 1841)	X	X	-
<i>Rhinella diptycha</i> (Cope, 1862)	-	X	-
<i>Rhinella henseli</i> (Lutz, 1934)	X	X	-
<i>Rhinella icterica</i> (Spix, 1824)	X	X	-
<i>Dendrophryniscus krausae</i> * Cruz and Fusinato, 2008	X	-	-
<i>Melanophryniscus admirabilis</i> Di-Bernardo, Maneyro, and Grillo, 2006	X	-	X
<i>Melanophryniscus tumifrons</i> * (Boulenger, 1905)	X	X	-
<i>Melanophryniscus simplex</i> * Caramaschi and Cruz, 2002	X	-	-
<i>Melanophryniscus devincenzii</i> * Klappenbach, 1968	X	X	-

<i>Melanophryniscus atroluteus</i> * (Miranda-Ribeiro, 1920)	X	X	-
<i>Melanophryniscus</i> aff. <i>pachyrhynus</i> *	X	X	X
<i>Melanophryniscus dorsalis</i> *(Mertens, 1933)	X	X	-
<i>Melanophryniscus cambaraensis</i> Braun and Braun, 1979	X	-	X
<i>Melanophryniscus pachyrhynus</i> (Miranda-Ribeiro, 1920)	-	X	-
<i>Melanophryniscus sanmartini</i> Klappenbach, 1968	-	X	-
<i>Melanophryniscus montevidensis</i> * (Philippi, 1902)	-	X	-
<i>Melanophryniscus macrogranulosus</i> Braun, 1973	X	-	X
CENTRONELIDAE			
<i>Vitreorana uranoscopa</i> (Müller, 1924)	X	-	-
MICROHYLIDAE			
<i>Elachistocleis bicolor</i> (Guérin-Méneville, 1838)	X	X	-
<i>Elachistocleis erythrogaster</i> Kwet and Di-Bernardo, 1998	X	-	X
<i>Chiasmocleis leucosticta</i> (Boulenger, 1888)	X	-	-
HEMIPHRACTIDAE			
<i>Fritziana mitus</i> Walker, Wachlevski, Nogueira da Costa, Nogueira-Costa, Garcia, and Haddad, 2018	X	-	-
HYLODIDAE			
<i>Hylodes meridionalis</i> (Mertens, 1927)	X	-	-
<i>Crossodactylus schmidti</i> Gallardo, 1961	X	-	-
ODONTOPHRYNIDAE			
<i>Odontophrynus reigi</i> Rosset, Fadel, Guimarães, Carvalho, Ceron, Pedrozo, Serejo, Souza, Baldo, and Mângia, 2021	X	X	-
<i>Odontophrynus asper</i> (Philippi, 1902)	X	X	-
<i>Odontophrynus maisuma</i> Rosset, 2008	X	X	-

<i>Proceratophrys avelinoi</i> Mercadal de Barrio and Barrio, 1993	X	-	-
<i>Proceratophrys brauni</i> Kwet and Faivovich, 2001	X	-	-
<i>Proceratophrys bigibbosa</i> (Peters, 1872)	X	-	-
CERATOPHRIDAE			
<i>Ceratophrys ornata</i> (Bell, 1843)	-	X	-
<i>Ceratophrys aurita</i> * (Raddi, 1823)	X	-	-
ALSODIDAE	-		-
<i>Limnomedusa macroglossa</i> (Duméril and Bibron, 1841)	X	X	-
CYCLORAMPHIDAE			
<i>Cycloramphus valae</i> Heyer, 1983	X	-	-
<i>Thoropa saxatilis</i> Cocroft and Heyer, 1988	X	-	-
RANIDAE			
<i>Lithobates catesbeianus</i> (Shaw, 1802)	X	X	-
GYMNOPHIONA			
TYPHLONECTIDAE			
<i>Chthonerpeton indistinctum</i> (Reinhardt and Lütken, 1862)	X	X	-
SIPHONOPIDAE			
<i>Luetkenotyphlus brasiliensis</i> (Lütken, 1851)	X	-	-
<i>Siphonops annulatus</i> (Mikan, 1822)	X	-	-
<i>Siphonops paulensis</i> Boettger, 1892	X	X	-
Total 118	109	64	5

b. Espécies em relação aos biomas e fitofisionomias vegetais no RS

Considerando a riqueza total de espécies de anfíbios (118 spp.), 54 espécies (46%) ocorrem de forma exclusiva na Mata Atlântica e nove (8%) espécies no bioma Pampa, com 55 espécies (47%) compartilhadas entre os dois biomas no RS. Por outro lado, considerando a riqueza de espécies, porém de forma não exclusiva nos biomas analisados, 109 espécies são conhecidas para a Mata Atlântica e 64 espécies para o Pampa no RS (Figura 3, Tabela 1 e Anexo 1).

Em relação ao endemismo de espécies no Rio Grande do Sul, são conhecidas somente cinco espécies (*Elachistocleis erythrogaster*, *Melanophryniscus admirabilis*, *Melanophryniscus cambaraensis*, *Melanophryniscus macrogranulosus* e *Melanophryniscus* aff. *pachyrhynus*), representado aproximadamente 4.3 % do total de espécies do Estado. Dentre estas espécies, *M.* aff. *pachyrhynus* (Figura 2D) ocorre no bioma Pampa e a Floresta Estacional (FES), com as demais espécies ocorrendo de forma exclusiva em áreas de influência da Floresta Ombrófila Mista (FOM) na região nordeste do estado, limite meridional do bioma Mata Atlântica.

Por sua vez, dentre aquelas espécies conhecidas de material proveniente da localidade-tipo ou com poucos registros de ocorrência documentados, podemos mencionar: *E. erythrogaster*, conhecida de somente duas localidades nos municípios de São Francisco de Paula e Cambará do Sul (Parque Nacional de Aparados da Serra e Parque Nacional da Serra Geral) (KWET & DI-BERNARDO, 1998; GARCIA & VINCIPROVA, 2003); *Dendrophryniscus krausae* (Fig. 2E), descrita de material proveniente do município de Maquiné, Rio Grande do Sul (Reserva Biológica da Serra Geral) e também conhecida do município de Cambará do Sul (Parque Nacional de Aparados da

Serra)(CRUZ & FUSINATO, 2008); *Boana semiguttata* (Fig. 2F), apenas atualmente registrada no Estado, em uma localidade no município de São Francisco de Paula (FAIVOVICK ET AL. 2021); *Lysapsus lymellum*, somente em uma localidade no município de Barra do Quaraí, fronteira sudoeste do Estado com o Uruguai (KEHR, 1983).

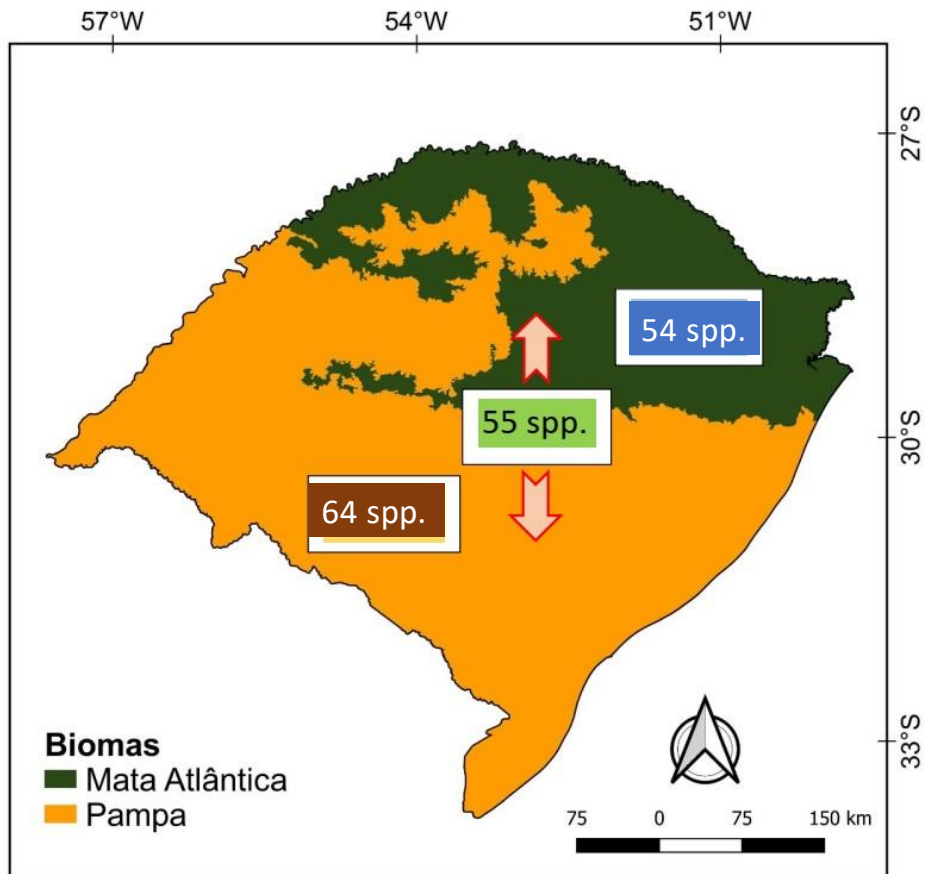


Figura 3. Mapa do Rio Grande do Sul com riqueza de espécies de anfíbios nos biomas Pampa e Mata Atlântica e conjuntamente nos dois biomas (setas).

A riqueza de espécies de anfíbios encontrada para o RS (118 spp), corresponde a aproximadamente 10 % da riqueza conhecida no país (1188 espécies; SEGALLA ET AL. 2021). Considerando agora a riqueza de espécies encontrada no bioma Mata Atlântica do Estado, e comparando com a riqueza de espécies conhecidas para a todo o bioma no Brasil (625 spp.; ROSA-FEREZ ET AL. 2018), o RS abriga somente 17 % (109 spp.) do total de espécies previstas. Apesar disso, a diversidade de espécies encontrada representa

aproximadamente 92% do total de espécies atualmente conhecidas para o Estado, indicando a importância de formações atlânticas e suas fitofisionomias (FOM, FOD e FES), no incremento da diversidade de espécies de anfíbios a nível regional.

Por outro lado, no bioma Pampa foram registradas 64 espécies com somente nove delas ocorrendo de forma exclusiva (*Ceratophrys ornata*, *Phyllomedusa iheringii*, *M. sanmartini*, *Melanophryniscus pachyrhynchus*, *Melanophryniscus montevidensis*, *Rhinella azarai*, *R. dyptichia*, *Scinax fontanorossai* e *Lysapsus limellum*) e nenhuma espécie endêmica neste bioma, com nossos resultados similares a estudos prévios para porção da Savana Uruguaia dentro do Estado (GARCIA ET AL. 2007, mencionada como ecorregião Campos; ZANK, 2012; ALVARES ET AL. 2022). A riqueza e endemismo de espécies encontrados para o bioma Pampa são comparáveis a outras ecorregiões campestres de áreas abertas do sul da América do Sul, com algumas apresentando valores de riqueza e endemismo similares (*i.e.*, Campos Mesopotâmicos – 42 spp., nenhuma spp. endêmica; Chaco Seco – 53 spp., 5 spp. endêmicas; Chaco Úmido – 56 spp., 1 spp. endêmica; Esteros de Iberá – 46 spp., 1 endêmica) (GARCIA ET AL. 2007; ZANK, 2012; VASCONCELOS ET AL. 2019, ALVARES ET AL. 2022). Segundo ALVARES ET AL. (2022), a composição da fauna de anfíbios da Savana Uruguaia se deve principal a influência de espécies florestais e campestres distribuídas em fitofisionomias como FES, FOM e FOD. Este fato é corroborado em parte, pela riqueza encontrada no presente estudo para estas formações e principalmente, pelo considerável número de espécies compartilhadas nos dois biomas (55 spp.; 47%; Anexo 1). O bioma Pampa apresenta diversos problemas de conservação, sobretudo impactos e ameaças a ambientes campestres e em áreas dispostas em mosaicos de campo e floresta (*i.e.*, Serra do Sudeste), aliados a problemas de desertificação, conversão de campo em silvicultura, monoculturas de uso intensivo de soja e arroz

irrigado, e a pouca representação de Unidades de Conservação neste bioma (e.g., OVERBECK ET AL. 2007; BRANDÃO ET AL. 2007; PILLAR ET AL. 2009).

Nas áreas de Floresta Atlântica do estado considerando as fitofisionomias vegetais adotadas, a maior riqueza de espécies de anuros foi observada em áreas de Floresta Ombrófila Mista (FOM), sendo reconhecidas 89 espécies nesta ecorregião. A formação de Floresta Estacional (FES) abrigou a segunda maior riqueza de espécies com 75 espécies distribuídas. Na formação de Floresta Ombrófila Densa (FOD) foram registradas 67 espécies e na Restinga Costeira (RES) outras 41 espécies, sendo esta última, a formação com a menor riqueza de espécies no RS (Figura 4 e Anexo 1).

Algumas espécies foram registradas em algumas fitofisionomias do Estado de forma exclusiva, como *Scinax imbegue*, *Bokermannohyla hylax* e *Leptodactylus paranaru* na Floresta Ombrófila Densa e *Trachycephalus typhonius* na Floresta Estacional. Na Floresta Ombrófila Mista sete espécies apresentaram distribuição exclusiva, sendo elas, *Boana semiguttata*, *Scinax pinima*, *Dendrophryniscus krausae*, *Melanophryniscus simplex*, *Melanophryniscus admirabilis*, *Melanophryniscus cambaraensis* e *Elachistocleis erythrogaster*. A Restinga Costeira foi a única formação do estado sem espécies com ocorrência exclusiva.

A riqueza de espécies encontrada em relação as fitofisionomias demonstraram que FOM apresentou a maior riqueza no RS (89 spp.), o que também correspondeu a aproximadamente 82% das espécies de anfíbios prevista para FOM em toda a Floresta Atlântica (109 spp.; ROSA-FEREZ ET AL. 2018). Apesar disso, áreas de Floresta de Araucária e campos nativos do Planalto meridional do RS apresentam diversas ameaças e impactos conhecidos (e. g. fragmentação de habitat, monocultura de espécies exóticas madeiráveis, extensas monoculturas de soja e milho, hidroelétricas) (e.g., FONSECA,

1995; DEAN, 1996; CARVALHO & BATELLO, 2009; RIBEIRO ET AL. 2009), que provavelmente afetaram e ainda afetam a distribuição e persistência das populações e espécies de anfíbios a nível local (PRIMACK & RODRIGUES, 2001). Desta forma, entendemos que os remanescentes florestais e áreas campestres de FOM no Estado ainda possuem uma considerável riqueza de espécies, apesar de muitas destas espécies apresentarem status de ameaça ou estarem avaliadas como dados deficientes (i. e. 50% das espécies DDs) (LIVE, 2014), além da presença de algumas espécies consideradas raras (e.g., *E. erythrogaster*; NOVAES-E-FAGUNDES, ET AL. 2022).

Demais fitofisionomias vegetais avaliadas no Estado com substancial diversidade de espécies, a FES (75 spp.) e a FOD (67 spp.), quando comparadas a riqueza contida nestas fitofisionomias na Floresta Atlântica, representaram somente 29 % e 14 %, respectivamente (ROSA-FEREZ ET AL. 2018). Alguns fatores podem ser apontados para esta relação de menor diversidade de espécies encontrada: *i*) a posição geográfica do Estado e o efeito do gradiente latitudinal (veja WILLIG ET AL. 2003, para teorias alternativas), já que o RS encontra-se em zona transitória entre a região Neotropical e Subtropical, esta última naturalmente menos rica em espécies e com tendência a maior riqueza e distribuição de espécies campestres (GARCIA ET AL. 2007; ZANK, 2012), *ii*) o Estado representar o limite meridional da Floresta Atlântica com esperada diminuição na diversidade de espécies e *iii*) status de conservação atual dos ambientes florestais e campestres destas formações (*i.e.*, FOD e FES) no Estado.

A FES, por exemplo, composta por Florestas Deciduais e Semidecíduas são consideradas as florestas mais ameaçadas no mundo (MURPHY & LUGO, 1986; JANZEN, 1998; PENNINGTON, ET AL. 2000). Estas Florestas apresentaram acelerada perturbação nas últimas décadas devido à forte processo de supressão e fragmentação, transformando e reduzindo a FES a pequenos fragmentos associados a presença de matriz agrícola

desenvolvida (*e.g.*, projetos de agricultura, silvicultura e pastagens) (GERHARDT, 1994; WERNECK ET AL., 2000), com estimativas apontando para somente 1 a 2% de sua extensão original ainda restante (TABARELLI & GASCON, 2005; SANTOS ET AL. 2009; IOP ET AL 2011; LANDGRAF, 2013).

Já a FOD está representada no Estado por área muito pequena com somente 1260 km² (ou 1.2 % da porção do bioma Mata Atlântica no estado), e se encontra amplamente fragmentada e alterada, com diversas ameaças e impactos previstos para esta fitofisionomia atlântica (BRACK, 2009; PROJETO MAPBIOMAS, 2022). Mesmo assim, é particularmente surpreendente a relação encontrada entre área *versus* diversidade de espécies de anfíbios da FOD no RS, com esta formação sozinha abrigando 57% da riqueza total de anfíbios do Estado. Recente estudo tratando das espécies de anfíbios da Bacia Hidrográfica do rio Tramandaí (BHRT), região nordeste do estado do RS (LOPES ET AL. 2019; M. Freire, dados inéditos) corrobora o observado acima, aonde foi registrado que fitofisionomias atlânticas representativas da bacia (FOD e RES), além da presença de FOM nas cotas elevadas dos fundos dos vales associada a campos de altitude, abrigaram elevada riqueza de espécies (82 spp.), ou seja, 70% de todas as espécies de anfíbios do Estado, fazendo desta bacia hidrográfica provavelmente a mais diversa em espécies de anfíbios no RS. Estes dados de riqueza na BHRT são comparáveis a outros *hotspots* de biodiversidade na Floresta Atlântica (*e.g.*, 108 spp. - município de Santa Teresa, Espírito Santo; FERREIRA ET AL. 2019; 80 spp. - RPPN Serra Bonita, Bahia; DIAS ET AL. 2014).

A caracterização da composição de espécies na RES é tarefa difícil, porque envolve questões indefinidas a nível conceitual na adoção do ambiente Restinga como unidade vegetacional distinta, além de limites controversos na literatura (SILVA, 1999; XAVIER ET AL. 2015). Particularmente no Estado, os limites de RES se confundem em suas zonas de contato com o bioma Pampa ao sul e FOD, ao longo de sua estreita faixa

de contato, à nordeste. Além disso, de um modo geral, também existe uma dificuldade em separar a composição de espécies de anfíbios entre FOD e RES ao longo do bioma Mata Atlântica, padrão observado em diversos estudos (GARCIA ET AL. 2007; CARVALHO-E-SILVA ET AL. 2000, VAN SLUYS ET AL. 2004, BERTOLUCI ET AL. 2007; NARVAES ET AL. 2009). Apesar disso, nossos dados de riqueza de espécies na formação RES (41 spp.) são comparáveis e bastante similares aos obtidos por ZANK (2012), que indica uma riqueza entre 35 e 40 spp., para o nordeste da ecorregião Savana Uruguaia (em contato com RES), projetada através de modelos de distribuição geográfica, com algumas diferenças esperadas na composição de espécies distribuídas na porção central e norte da RES, entre os municípios de Osório e Torres (*e.g.*, *Haddadus binotatus*, *Dendropsophus weneri*, *Boana guentheri*, *Sphaenorhynchus caramaschii*).

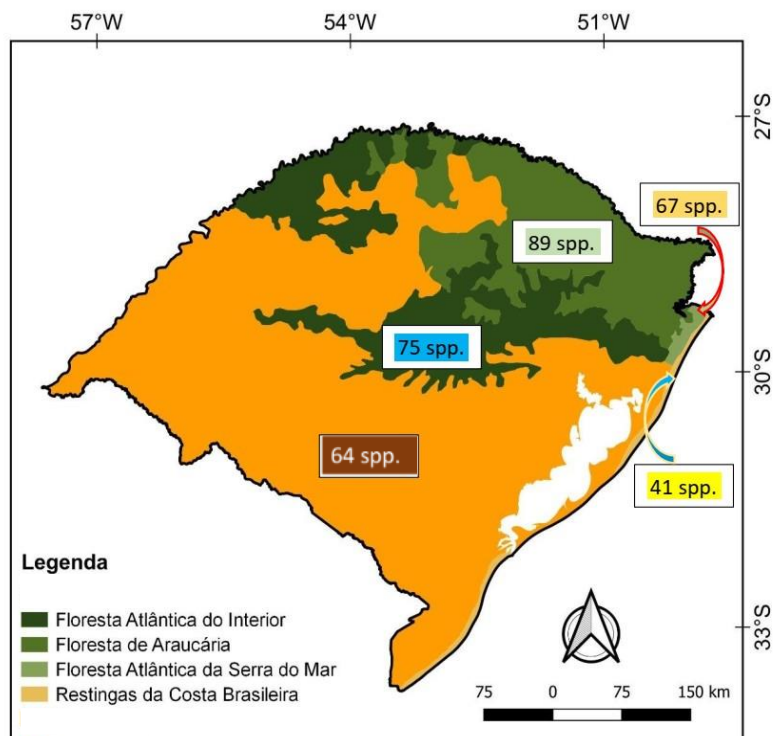


Figura 4. Mapa demonstrando a riqueza de espécies associada as diferentes fitofisionomias da Floresta Atlântica e no bioma Pampa (cor laranja) no Estado do Rio Grande do Sul.

c. Padrão de distribuição das espécies

Dentre o total de espécies de anfíbios no estado do Rio Grande do sul, o padrão associado a Distribuição ampla (36 spp.; 30.5%) representou a categoria com o maior número de espécies e representatividade em relação as demais, seguida pela categoria associada a Região Sul e países vizinhos (28 spp.; 24 %) e Região Sul (25 spp.; 21.5 %). Ainda, o padrão associado a distribuição na Região Sul/Sudeste (16 spp.; 14 %) apresentou valores de riqueza de espécies intermediário, e dentre as categorias menos representativas, observamos o padrão Rio Grande do Sul e países vizinhos (7 spp.; 6 %) e espécies com distribuição endêmica (5 spp.; 4.5 %).

O padrão de distribuição das espécies de anfíbios do estado do RS está associado a três categorias principais: Distribuição ampla, Região Sul e países vizinhos e Região Sul, que juntas somaram 89 espécies ou 76% do total de espécies conhecidas. Neste contexto, a fauna de anfíbios do RS é constituída de considerável parcela de espécies com distribuição ampla, que de modo geral, estiveram associadas a diversas fitofisionomias vegetais, com algumas espécies provenientes de outros biomas, domínios e/ou ecorregiões sul-americanas, como o Cerrado (*e.g.*, *Leptodactylus podicipinus*, *Boana albopunctata*), Chaco/Pampeana, (*e.g.*, *Leptodactylus mystacinus*, *Scinax nasicus*), Floresta Atlântica (*e.g.*, *Dendropsophus elegans*, *Trachycephalus mesopaheus*). A fauna de anfíbios contidas nos padrões da Região Sul e Região Sul e países vizinhos indicou também uma forte influência dos demais estados da região Sul (Santa Catarina e Paraná), e da Argentina na composição de espécies á nível regional, principalmente a comunidade de espécies florestais (*pool* de espécies da FOD, FOM e FES) associadas ao setor sul da Floresta Atlântica (MALAGOLI, 2018). Em relação a espécies endêmicas do Estado, apesar dos baixos números, demonstraram a importância das espécies do gênero

Melanophryniscus (*M. admirabilis*, *M. cambaraensis*, *M. macrogranulosus*) sob o ponto de vista da conservação, visto que diversas espécies estão ameaçadas a nível regional, nacional e global (LIVE, 2014; CAORSI ET AL. 2014; FONTE ET AL. 2014; BRASIL, 2022).

d. Status de conservação estadual, nacional e global

A avaliação estadual realizada em 2014 avaliou um total de 104 espécies confirmadas para o estado do RS, o que resultou em 22 espécies (19%) categorizadas em algum grau de ameaça (LIVE, 2014; RIO GRANDE DO SUL, 2014) (Anexo 1). Entre as espécies ameaçadas temos: *Melanophryniscus cambaraensis* (Vulnerável - VU), *Boana curupi*, *Crossodactylus schimdti*, *Haddadus binotatus*, *Melanophryniscus dorsalis*, *M. macrogranulosus*, *M. montevidensis*, *Phyllomedusa distincta*, *P. tetraploidea*, *Sphaenorhynchus caramaschii* e *Thoropa saxatilis* (Em Perigo - EN), *Ceratophrys ornata*, *Itapotihyla lansdorffii*, *Leptodactylus labyrinthicus*, *Melanophryniscus admirabilis* e *Scinax rizibilis* (Criticamente em Perigo - CR). Já entre as espécies de anfíbios consideradas Quase Ameaçada (NT) estão: *Hylodes meridionalis*, *Leptodactylus furnarius*, *Melanophryniscus sanmartini* e *Vitreorana uranoscopa*. As espécies que constam com falta de informação suficiente para categorização do status são incluídas na categoria de dados insuficientes (DD), sendo que no RS estão representadas por 14 espécies (cerca de 15 % do total de espécies)(Anexo 1).

A avaliação nacional (BRASIL, 2022; ICMBIO, 2022) indica um cenário um pouco distinto em relação a avaliação estadual, com somente 12 espécies incluídas em alguma categoria de ameaça ou categorizadas como NT e DD, da seguinte forma: CR-PEX (Criticamente em Perigo – potencialmente extinta) (*Ceratophrys ornata*), CR (*Melanophryniscus admirabilis*), EN (*Melanophryniscus cambaraensis* e *M.*

macrogranulosus), VU (*Scinax pinima*, *Melanophryniscus dorsalis*, e *M. montevidensis*), NT (*Melanophryniscus sanmartini*) e DD (*Dendrophryniscus krausae*, *Boana stela*, *Elachistocleis erythrogaster* e *Cycloramphus valae*).

Por fim, as avaliações do status de conservação realizado pela União Internacional para Conservação da natureza (IUCN, 2023), ocorreram em períodos anteriores as primeiras avaliações nacionais e estaduais, portanto, utilizando base de dados antiga e desatualizada em relação ao conhecimento da distribuição geográfica de diversas espécies; está em andamento uma reavaliação do risco de extinção das espécies brasileiras pela IUCN, com a acesso a um maior número de espécies, e incremento acerca do status de conservação de forma atualizada (I. F. Machado, comun. pessoal). Apesar disso, avaliação vigente da IUCN classificou determinadas espécies em alguma categoria de ameaça (*Melanophryniscus*; 5 espécies), além de outros anuros de gêneros distintos como NT (4 espécies) e DD (8 espécies)(Anexo 1).

Analisando o conjunto de espécies com ocorrência do Estado, mas que porém ainda não foram avaliadas (NA) regionalmente, temos um total de 14 espécies de anfíbios anuros, sendo que três novos registros de ocorrência para o Estado (*Scinax imbegue*, *Bokermannohyla hylax* e *Dendropsophus elegans*), duas espécies novas e ainda não descritas (*Physalaemus* sp. nov e *Scinax* sp. nov.), além de outras nove espécies representando novas e antigas ocorrências documentadas (*Lysapsus lymellum*, *Ceratophrys aurita*, *B. semiguttata*, *S. pinima*) (veja Secção Comentários taxonômicos), e recentes descrições de espécies (*F. mitus*, *P. carrizorum*, *S. fontonorossai*, *L. paranaru*, *O. reigei*).

De acordo com a lista Vermelha da IUCN, anfíbios são o grupo de vertebrados mais ameaçados do mundo com 41 % das espécies de anfíbios ameaçadas de extinção,

sendo que 33.4% delas estão incluídas nas categorias Criticamente em perigo, Em perigo e Vulnerável e aproximadamente 17 % são espécies dados deficientes (DD), dentre todas as espécies avaliadas (IUCN, 2022). Já no estado do Rio Grande do Sul a avaliação vigente do status de conservação das espécies de anfíbios (104 espécies avaliadas; LIVE, 2014), resultou na categorização de 20 espécies (19.7%) em algum grau de ameaça (CR, EN, VU, NT) e outras 14 espécies (13.5%) como dados deficientes (DDs), indicando que conjuntamente, 33 % do total de espécies estão ou podem estar sob risco de ameaça de extinção de suas populações e/ou habitats.

Tratando da distribuição das espécies ameaçadas e DDs conjuntamente em relação fitofisionomias do Estado, FOM abrigou o maior número de espécies (16 spp.), seguido pela FOD e FES com 12 espécies cada, RES somente uma espécie (*M. dorsalis*) e outras oito espécies no bioma Pampa. Observamos também, que entre espécies ameaçadas e DDs, somente 23% (8 spp.) das espécies nesta categoria são de áreas abertas e campestres, com o restante das espécies predominantemente de habito florestal (77%, 26 spp.). Em resumo, nossos dados indicaram que o bioma Mata Atlântica e suas fitofisionomias (FOM, FES e FOD) foram aquelas com maior riqueza de espécies e o maior número de espécies ameaçadas e DDs (Anexo 1).

Espécies DDs não são categorizadas por falta de informação, seja a nível do conhecimento distribucional, status populacional e/ou ameaça conhecida, e hoje representam uma a cada seis espécie avaliadas globalmente, posicionando espécies DDs no centro de importante discussão com enfoque conservacionista (HOWARD & BICKGFORD, 2014; NORI & LOYOLA, 2015; GONZÁLEZ-DEL-PLIEGO ET AL., 2019; BORGELT ET AL. 2022). Alguns estudos estimaram que entre 63% a 85% destas espécies estão na verdade ameaçadas, com a previsão de sensíveis mudanças futuras no cenário da fauna Sul-americana de anfíbios, caso estas estimativas se confirmem (HOWARD &

BICKFORD, 2014; NORI & LOYOLA, 2015). Ainda mais, estes estudos tem chamado atenção de que espécies DDs, em relação aquelas ameaçadas, são frequentemente marginalizadas em planejamento e priorização para conservação e negligenciadas em políticas públicas, e que ao contrário do que se pensa, grande proporção delas são provavelmente espécies ameaçadas de extinção. Segundo NORI & LOYOLA (2015), 81% da distribuição das espécies DDs no mundo encontram-se fora de áreas protegidas e mais da metade delas tem somente 1% de suas distribuições em áreas protegidas.

Para as espécies categorizadas como DD no Rio Grande do Sul (14 spp., 13.5%), pelo menos a metade não se encontra protegida em nenhuma unidade de conservação do Estado, muitas delas com somente um registro de ocorrência documentado (e. g., *Boana prasina*; KWET & MIRANDA, 2001) ou conhecida de poucos exemplares (*Rhinella azarai*; ZANK, 2012). Ainda, tratando da efetividade das UCs na proteção das espécies de anfíbios, detectamos que 13 espécies (42 % de ameaçadas e DDs ou 12% do total para o Estado), atualmente não se encontram protegidas em nenhuma Unidade Conservação no Rio Grande do Sul, tanto no bioma Mata Atlântica (*Boana prasina*, *M. admirabilis*, *M. macrogranulosus*, *Boana stelae*, *Dendropsophus nahdereri*, *L. brasiliensis*) como no bioma Pampa (*Leptodactylus furnarius*, *Leptodactylus labyrinthicus*, *L. podicipinus*, *Melanophryniscus sanmartini*, *M. tumifrons* e *M. montevidensis* e *R. azarai*). Mostra-se particularmente preocupante a situação da conservação e proteção de algumas espécies de anfíbios no bioma Pampa, que devido ao baixo número de UCs presentes, são consideradas insuficientemente protegidas (ZANK, 2012). Exemplo disso, a espécie *Ceratophrys ornata* é a única espécie que está protegida (*i.e.*, Estação Ecológica do Taim) no bioma Pampa no estado do Rio Grande do Sul, com demais espécies ocorrendo fora de UCs. Desta forma, esforços para reavaliação das espécies ameaçadas e DDs, mediante

busca de novas populações e posterior reavaliação de seus status de conservação são ações necessárias e urgentes para estas espécies no estado do Rio Grande do Sul.

e. Amostragens de espécies de anfíbios no Rio Grande do Sul

A localização dos registros de ocorrências de anfíbios ao longo do bioma Pampa e Mata Atlântica no estado do Rio Grande do Sul, de modo geral, indicaram que algumas áreas estão melhor amostradas que outras, com destaque para um maior número de registros na região da capital do estado (Porto Alegre e região metropolitana), e em algumas áreas nas regiões fisiográficas da Serra Gaúcha, porção leste e central da Depressão Central e Litoral Norte, esta última, especialmente nos municípios localizados a nordeste do Estado (Figura 5). Porém, de modo geral, ainda existem diversas áreas subamostradas ou pouco estudadas em relação a diversidade de espécies de anfíbios no RS. Desta forma, consideramos que estas áreas devem ser eleitas como prioritárias para inventários de anfíbios futuramente no Estado, principalmente por conta do estado atual de conservação e do uso do solo, a baixa presença ou total ausência de Unidades de Conservação (UC) e pela indicação para comporem algumas Áreas Prioritárias para a Conservação no RS (MMA, 2007; PROJETO MAPBIOMAS, 2022; SEMA, 2023)(Anexo 2).

Considerando áreas situadas dentro do bioma Mata Atlântica pouco amostradas, destacamos a porção central da região Norte/Nordeste associada aos Campos de Cima da Serra e compostas por Floresta de Araucária associada a áreas campestres, que apresentam poucas UCs circunscritas dentro desta área em particular (Parque Estadual do Espigão-Alto, Estação Ecológica de Aracuri-Esmeralda, Parque Estadual do Ibiritiá, Fig. 5, pontos 3, 6 e 9, respectivamente), com a ESEC Aracuri-Esmeralda ainda carente de inventário de anfíbios e as demais UCs consideradas insuficientemente conhecidas.

Apesar disso, o maior número de registros de espécies no RS é proveniente de diversos estudos e inventários realizados em UCs (SEMA, 2023) ou reservas particulares (i.e, Centro de Pesquisas e Conservação da Natureza Pró-Mata; KWET & DI-BERNARDO, 1999; KWET ET AL. 2010) na região nordeste do Estado, sob influência predominante das fitofisionomias FOD e FOM, determinando esta região como a melhor conhecida no Estado sob o ponto de vista da diversidade de espécies de anfíbios (Fig. 5, pontos 8, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 e 22).

Já na área localizada na região Centro-norte, afora a Flona de Passo Fundo (Fig. 5, ponto 4), não existem outras UCs nos seus limites. Esta região é importante zona transicional entre ambientes mesclados por influência da FES e FOM e potencialmente podem abrigar espécies de anfíbios de hábito florestal e campestre conjuntamente (Anexo 1 e 2).

Dentre as áreas associadas ao bioma Pampa, destacamos áreas na região Noroeste com a presença isolada do Parque Estadual do Papagaio Charão (Fig 5, ponto 2), atualmente com plano de manejo em fase de elaboração na Unidade, portanto sem fauna de anfíbios inventariada. Ocorrem atividades agrícolas de plantio de soja em nível elevado e plantio de exóticas moderados nesta área (CORDEIRO & HASENACK, 2009; HASENACK ET AL. 2010; PILLAR & LANGE, 2015).

Na região Oeste, ocorre uma forte presença de atividade agrícola principalmente a cultura da soja e arroz (HASENACK ET AL. 2010) e somente a presença de uma UC (ReBio Ibicuí—Mirim; Fig. 5, ponto 33). Esta Unidade de Conservação está em fase de regularização fundiária carente de plano de manejo (Anexo 2). Estas áreas (oeste e noroeste) apresentam a pior situação em relação a conservação de ambientes campestres e florestais de todo o Estado do RS, com forte impacto de ações antrópicas relativas à monocultura (soja e arroz) e silvicultura em larga escala. As carências de amostragens de

anfíbios detectadas podem refletir o estado de conservação pretérita e atual da paisagem de modo geral, restando pouco remanescentes campestres nativos. Os campos nativos, outrora íntegros, estão em sua maioria convertidos para atividades agrícolas extensas, estabelecendo uma perda geral de biodiversidade, incluindo anfíbios, somada a falta de implementação de UCs e políticas públicas visando a conservação desta porção do bioma Pampa (BERED ET AL. 2009; PILLAR & VELEZ, 2010; ZANK, 2012; PILAR & LANGE, 2015). De acordo com as proposições feitas para Áreas Prioritárias para Conservação nesta região do Estado (MMA, 2007) algumas áreas foram elencadas para criação de UCs (Nascentes do rio Butuí, Restinga de Santiago, Unistalda e Sanga Laranjeira).

A área situada na região Sudoeste apresenta um cenário com todas as atividades agrícolas bastante desenvolvidas, com destaque para cultura do arroz e soja, e em nível moderado, projetos de silvicultura (HASENACK ET AL. 2010). Esta área abriga a maior UC dentro do bioma Pampa (APA do Ibirapuitã; Fig. 5., ponto 30) (BRANDÃO ET AL. 2007) com inventários de anfíbios realizado (BOLZAN ET AL. 2016), além da Reserva Biológica São Donato (ANDRÉ ET AL. 2019) (Fig. 5., ponto 32), e do Parque Estadual do Espinilho (Fig. 5, ponto 31), esta última UC com estudos preliminares (plano de manejo) indicando um baixo conhecimento das espécies de anfíbios nesta Unidade (Anexo 2).

Já a área localizada na porção Centro-Sul abriga somente parte da APA do Ibirapuitã, sem outras UCs existentes nesta região. Possui um cenário com atividades agrícolas bastante desenvolvidas, com destaque para cultura do arroz e soja (CORDEIRO & HASENACK, 2009; HASENACK ET AL. 2010). Para esta região do Estado, de acordo com as Áreas Prioritárias para Conservação (MMA, 2007), algumas áreas foram propostas para realização de inventários (Pai-Passo, Upamaroti) e outras para a criação de UCs (Cerro do Jarau e Caverá).

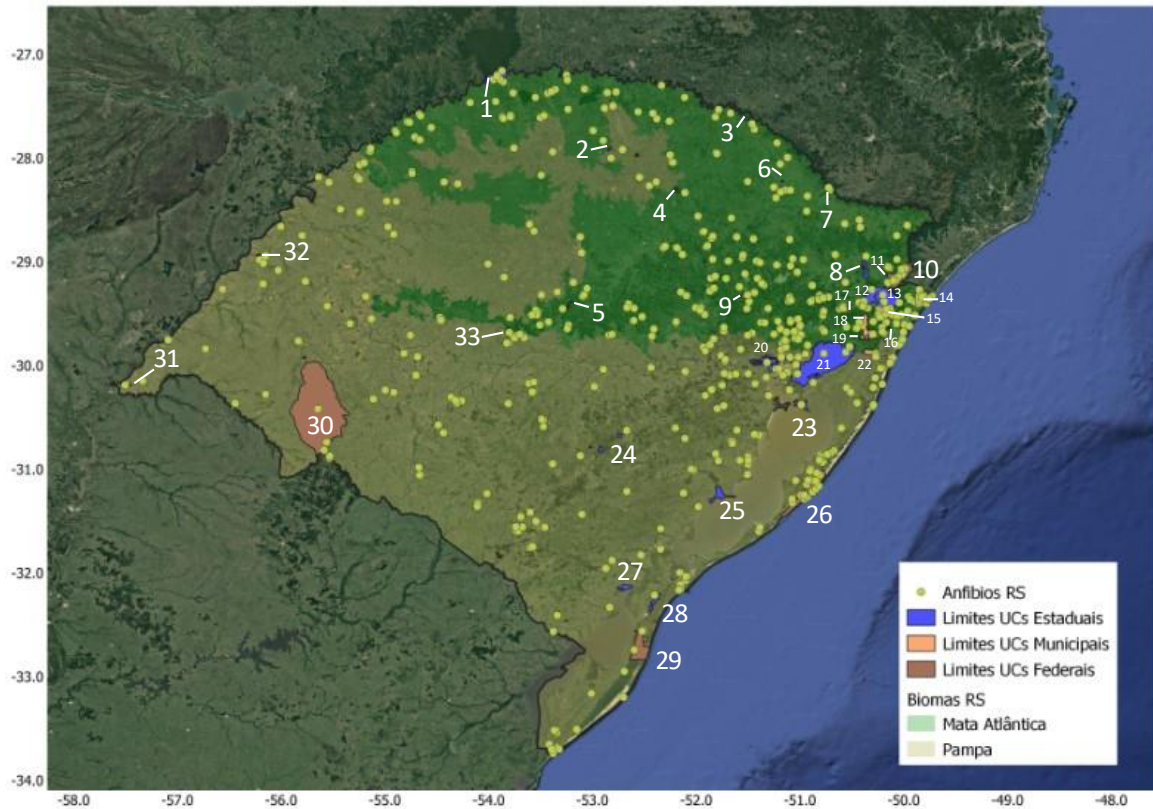


Figura 5. Mapa do estado do Rio Grande do sul demonstrado a localização dos registros de anfíbios (pontos amarelos) ao longo do bioma Pampa (verde claro) e Floresta Atlântica (verde escuro) e Unidades de Conservação Estaduais (azul), Municipais (laranja) e Federais (marrom): 1- Parque Estadual do Turvo; 2 – Parque Estadual do Papagaio-Charão; 3 – Parque Estadual do Espigão-Alto; 4 – FLONA de Passo Fundo; 5 – Parque Estadual da Quarta-Colônia; 6 – Estação Ecológica de Aracurí-Esmeralda; 7 – Parque Estadual do Ibiritiá; 8 – Parque Estadual de Tainhas; 9 – FLONA de Canela; 10 – Parque Nacional da Serra Geral; 11 – Parque Nacional de Aparados da Serra; 12 – Estação Ecológica Estadual de Aratinga; 13 – APA Rota do Sol; 14 – Parque Estadual de Itapeva; 15 – Reserva Biológica Estadual Mata Paludosa; 16 – Reserva Biológica Serra Geral; 17 – FLONA de São Francisco de Paula; 18 – APA de Riozinho; 19 – APA do Caraá; 20 – Parque Estadual do Delta do Jacuí; 21 – APA do Banhado Grande; 22 – APA Morro de Osório; 23 – Parque Estadual de Itapuã; 24 – Parque Estadual do Podocarpus; 25 – Parque Estadual do Camaquã; 26 – Parque Nacional da Lagoa do Peixe; 27 – Reserva Biológica do Mato Grande; 28 – Refugio da Vida Silvestre do Banhado dos Pacheco; 29 – Estação Ecológica do Taim; 30 – APA do Ibirapuitã; 31 – Parque Estadual do Espinilho ; 32 – Parque Estadual São Donato e 33 – Reserva Biológica do Ibicuí-Mirim.

A área na região Centro-leste abriga os recentemente implantados Parque Estadual do Podocarpus e Parque Estadual do Camaquã (Fig 5., pontos 24 e 25, respectivamente),

porém atualmente são Unidades sem plano de manejo e inventário de anfíbios disponível. O maior problema desta região está associado a atividade madeireira bem consolidada e em expansão (CORDEIRO & HASENACK, 2009; HASENACK ET AL. 2010).

Na região Sul do Estado, ocorrem atividades agrícolas bastante desenvolvidas, sobretudo plantio de exóticas e elevado nível de atividade agrícola das culturas da soja e arroz (CORDEIRO & HASENACK, 2009). Duas UCs na região foram recentemente implementadas (ReBio Mato Grande e Refugio da Vida Silvestre do Banhado dos Pacheco, Fig. 5, pontos 27 e 28, respectivamente), porém ainda não possuem planos de manejo disponíveis tampouco listas de espécies de anfíbios conhecidas (SEMA, 2023). Para estas regiões do centro-leste e sul do Estado, algumas áreas foram propostas para inventários (Altos do Canguçu) e diversas para implementação de UCs (Campos de Candiota e Hulha Negra, Guaritas, Palmas, Campos de Jaguarão e Coxilhas de Pedras Altas) de acordo com as Áreas Prioritárias para Conservação (MMA, 2007) (Anexo 2).

f. Espécies de ocorrência potencial no Rio Grande do Sul

Na Tabela 2 podemos ver uma síntese das 20 espécies elencadas dentro do grupo de espécies potenciais para o Estado, com informações sobre a identidade da espécie, localização em relação ao RS, incluindo ecorregiões associadas, municípios/localidades (Departamento no Uruguai e Províncias na Argentina), e fonte da informação, e que podem ser visualizados na Figura 6.

A região da Fronteira norte-nordeste do RS abrigou o maior número de espécies potenciais (13 espécies), todas de hábito florestal de acordo com nossa pesquisa. O primeiro grupo de espécies está associado exclusivamente a ambientes com

fitofisionomias de Floresta Ombrófila Densa e Floresta Ombrófila Mista (FOD e FOM), no limite nordeste do estado e sul do estado de Santa Catarina (SC) e em contato com a “Porta de Torres” (*sensu* RAMBO, 1950) em áreas baixas de planície e da Serra do mar, com domínio de espécies da Família Hylidae (*Boana albomarginata*, *Aplastodiscus cochranæ*, *Aplastodiscus ehrhardti*), além de *Phrynomedusa apendiculata*, *Dendrophryniscus berthalutzae*, *Hylodes perplicatus* e *Proceratophrys boiei*.

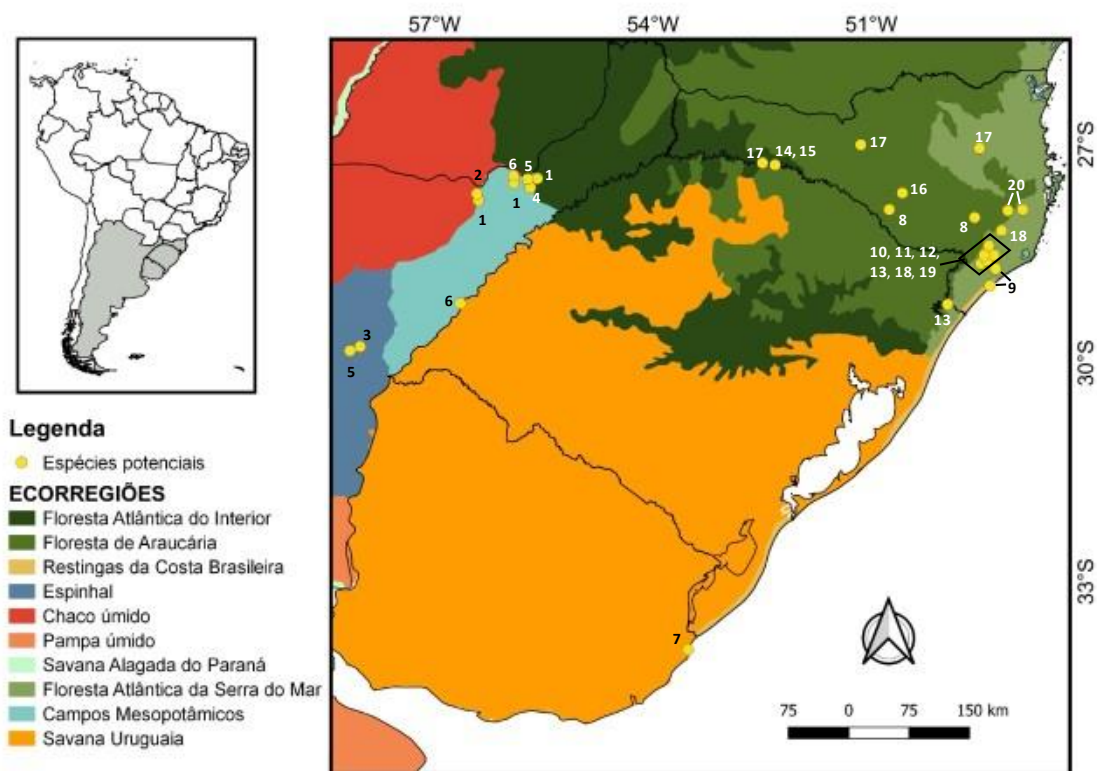


Figura 6. Mapa dos registros das espécies de potencial ocorrência para o Rio Grande do Sul ao longo das ecorregiões de OLSON ET AL (2001). Região oeste: 1, *Scinax similis*; 2, *S. fuscomarginatus*; 3, *S. acuminatus*; 4, *Melanophryniscus krauczuki*; 5, *Leptodactylus elenae*; 6, *Pseudopaludicola mystacalis*; Região sul: 7, *Nictimantis siemersi*; Região norte-nordeste: 8, *Scinax argyreornatus*; 9, *Boana albomarginata*; 10, *Aplastodiscus cochranæ*; 11, *Aplastodiscus ehrhardti*; 12, *Phrynomedusa apendiculata*; 13, *Dendrophryniscus berthalutzae*; 14, *Melanophryniscus spectabilis*; 15, *Melanophryniscus* aff. *devincenzi*; 16, *Physalaemus lateristriga*; 17, *Leptodactylus notoaktites*; 18, *Hylodes perplicatus*; 19, *Proceratophrys boiei*; 20, *P. sugguttata*.

Estas espécies apresentam ocorrência em municípios bastante próximos ao RS, com distâncias variáveis do limite do estado com SC, como por exemplo, os municípios de Treviso, Siderópolis e Grão-Pará (*Aplastodiscus ehrhardti*, *A. cochranæ*, *Dendrophryniscus berthalutzae*, *Proceratophrys boiei*; CERON ET AL. 2014; CERON ET AL. 2017; 21 km, 25km e 58 km, respectivamente; Figura 7A), Lauro Muller (*Prynomedusa apendiculata*; BAETA ET AL. 2016; 40 km), Urussanga (*Hylodes perplicatus*; E. Comitti, comun. pessoal; 38 km; Figura 7B) e Morro dos Conventos, Araranguá (*B. albomarginata*; 50km; L. F. Ugioni comun. pessoal). Um segundo grupo de espécies estiveram associadas a áreas de Floresta Ombrófila Mista (FOM) a nordeste, em localidades com distribuição mais continental e associada ao Planalto meridional em transição com a Serra do Mar, com destaque para as espécies *S. argyreornatus* e *P. lateristrigatus* (Figura 7C), ambas espécies ocorrendo no município de Ubirici (55 km; CARVALHO-ROCHA ET AL. 2020) e registros de *P. lateristrigatus* na localidade de São José do Cerrito (50 km) e Videira (70 km) e Água Doce para *Leptodactylus notoaktites* (55 km; Workshop de Avaliação das espécies de anfíbios da Mata Atlântica - Instituto Boitatá). Um terceiro grupo abrigou o anuro *Proceratophrys subguttata* em áreas de transição entre Floresta Ombrófila Densa e Floresta Ombrófila Mista (FOD/FOM) nos municípios de Anitápolis e São Bonifácio (100 km), localizados na porção centro-sul do estado de SC. O quarto e último grupo de espécies, estão localizados em municípios da fronteira norte (FOM) associada ao Planalto meridional do RS com o estado de Santa Catarina, e abrigou o sapo *Melanophryniscus* aff. *devincenzi* e *Melanophryniscus spectabilis* (Itá, 5 km; GIASSON ET AL. 2011; ZANK ET AL. 2014; Figura 7D) (Tabela 2).

Tabela 2. Espécies potenciais de anfíbios anuros para o Rio Grande do Sul e informações sobre ecorregião associada, localização dos registros em relação à estado, província, departamento com localidades próximas a fronteira do Estado e fonte da informação. Ecorregiões (*sensu* OLSON ET AL. 2001), para detalhes de acrônimos das ecorregiões veja Material e Métodos. ^a Alta probabilidade de futuro registro no RS, ^b Média probabilidade e ^c Baixa probabilidade.

Região/Espécie	Ecorregião	Estado/Dept. /Prov. /país	Fonte
Fronteira Oeste			
1. <i>Scinax similis</i> ^a	FAI, CME, CHA	Candelária (Misiones); Ituzaingo (Corrientes); Argentina	CARDOZO ET AL. (2011)
2. <i>S. fuscomarginatus</i> ^a	FAI, CME, ESP, CHA	Ituzaingo, Camba Trapo (Corrientes); Argentina	CARDOZO ET AL. (2011); CESPEDEZ ET AL. (1995)
3. <i>S. acuminatus</i> ^b	CME, ESP	Curuzu-Cutiá (Corrientes); Argentina	CARDOZO ET AL. (2011)
4. <i>Melanophryniscus krauczuki</i> ^a	FAI	Fachinal (Misiones); Argentina	BALDO & BASSO (2004)
5. <i>Leptodactylus elenae</i> ^a	FAI, CME, ESP	Curuzú Cutia (Corrientes); Candelaria (Misiones); Argentina	CESPEDEZ ET AL. 1995
6. <i>Pseudopaludicola mystacalis</i> ^a	FAI, CME, ESP	LA Cruz (Corrientes), Posadas (Misiones); Argentina	CESPEDEZ ET AL. (1995)
FRONTEIRA SUL			
7. <i>Nictimantis siemersi</i> ^c	SUR	Cerro Verde (Rocha); Uruguai	BARDIER & MANEYRO (2015)
Fronteira Norte			
8. <i>Scinax argyreornatus</i> ^a	RES, FAA, FAI	Ubirici, Campo Belo do Sul; Santa Catarina	CARVALHO-ROCHA ET AL. 2020
9. <i>Boana albomarginata</i> ^a	RES, FAT	Içara, Araranguá; Santa Catarina	ZUEC-AMP 7962; Ugioni, L. F. comm, pessoal
10. <i>Aplastodiscus cochranæ</i> ^a	FAT	Treviso; Santa Catarina	CERON ET AL. 2014
11. <i>Aplastodiscus ehrhardti</i> ^a	FAT	Urussanga, Siderópolis, Santa Catarina	CERON ET AL. 2014; 2017
12. <i>Phrynomedusa apendiculata</i> ^c	FAT	Lauro Muller; Santa Catarina	CRUZ, C. A. G. 1991
13. <i>Dendrophryniscus berthaltutzae</i> ^a	FAT	Praia Grande, Treviso; Nova Veneza; Santa Catarina	FOUQUET ET AL. 2012; CERON ET A. 2017; 2016
14. <i>Melanophryniscus spectabilis</i> ^b	FAA	Itá; Santa Catarina	GIASSON ET AL. 2011
15. <i>Melanophryniscus aff. devincenzi</i> ^a	FAA, FAI	Itá, Campo Belo do Sul; Santa Catarina	C. Zank, comum. pessoal

16. <i>Physalaemus lateristriga</i> ^a	FAT	Ubirici, Vidiera, São José do Cerrito; Santa Catarina	CARVALHO-ROCHA ET AL. 2020
17. <i>Leptodactylus notoaktites</i> ^c	RES, FAT, FAI, FAA	Água Doce; Santa Catarina	Avaliação espécies de anfíbios -Mata Atlântica - Instituto Boitatá
18. <i>Hylodes perplicatus</i> ^b	FAT	Siderópolis, Timbé do Sul, Anitápolis, Grão-Pará; Santa Catarina	CFBH 9940, 9956, 9957, 24278; UFMG-AMP 7099, USNM 245934-6
19. <i>Proceratophrys boiei</i> ^a	RES, FAT, FAI, FAA	Ubirici, Urussanga, Treviso, Lauro Muller; Santa Catarina	CARVALHO-ROCHA ET AL. 2020; CERON ET AL. 2014, 2017
20. <i>P. sugguttata</i> ^b	FAT	Anitápolis, Rancho Queimado; Santa Catarina	CFBH 20268-9; GONSALES (2008)

A região da Fronteira oeste do Estado, limítrofe a vizinha Argentina abriga seis espécies (*Scinax similis*, *S. fuscomarginatus*, *S. acuminatus*, *Melanophryniscus krauczuki*, *Pseudopaludicola mystacalis* e *Leptodactylus elenae* (Figura 7E) com potencial ocorrência no estado do RS. A maioria destas espécies são associadas a áreas abertas campestres e ocorrendo em até três províncias argentinas vizinhas, compostas por diferentes ecorregiões e que fazem fronteira com o RS: província de Entre-Rios (ecorregião Espinhal - ESP) a sudoeste do RS, província de Corrientes (ecorregião Campos Mesopotâmicos – CMe e Floresta Atlântica do Interior - FAI) a oeste, e província de Misiones (FAI e CMe) a noroeste. De acordo com a literatura consultada (CESPEDEZ ET AL. 1995; BALDO & BASSO, 2004; CARDOZO ET AL. 2011; VAIRA ET AL. 2012), duas espécies de anuros da família Leptodactylidae apresentaram distribuição em três províncias, confirmadas por registros de *Pseudopaludicola mystacalis* (78 km, localidade de Candelaria, Misiones, FAI; 2 km, localidade de La Cruz, Corrientes, CMe) e *Leptodactylus elenae* (65 km, localidade de Candelaria, Misiones, FAI; 60 km, localidade Curuzú Cutia, Corrientes, ESP; A perereca *Scinax similis* apresentou distribuição em duas ecorregiões, nas localidades de Candelária, Misiones (FAI, 55 Km) e Ituzaingo, Corrientes (CMe, 85 km). Um terceiro grupo com três espécies estiveram

associadas a somente uma província, o sapo *M. krauckuki* na província de Misiones, na localidade de Fachinal (FAI, 50 Km), e duas pererecas, *Scinax acuminatus* na província de Corrientes, localidade de Curuzu-Cutiá (ESP, 62 km) e *Scinax fuscomarginatus* em duas localidades na província de Corrientes, Ituzaingo (CMe, 85 km) e Camba Trapo (CMe, 70 km) (Tabela 2 e Figura 6).

A região da Fronteira Sul está associada a somente uma espécie que potencialmente pode vir ocorrer futuramente no RS, a perereca *Nictimantis siemersi*. Esta espécie está categorizada como dados insuficientes (DD) no Uruguai (CARREIRA & MANEYRO, 2019) e também é uma espécie prioritária no Sistema Nacional de Áreas Protegidas (ARRIETA ET AL. 2013). Segundo sua avaliação global é uma espécie menos preocupante (LC), apesar de suas populações estarem em declínio (IUCN, 2022). Considerada uma espécie de reprodução explosiva e rara, com somente dois registros de ocorrência conhecidos para o Uruguai (Banhados de Arazati, Dept. de São José; Parque Nacional Santa Teresa, Dept. de Rocha; NUNES ET AL. 2004), e sem novos registros de ocorrência para este país desde 1977 (LANGONE ET AL. 2004; CANAVERO ET AL. 2010). Uma destas localidades de interesse no presente estudo é o Parque Nacional de Santa Teresa, com último registro de *N. siemersi* coletado nesta localidade e áreas vizinhas no ano de 1959 (KLAPPENBACH, 1961; BARDIER & MANEYRO, 2015). Estudo realizado com *N. siemersi* sugere a sua potencial ocorrência no RS, devido à proximidade entre o Parque de Santa Teresa e a fronteira com o RS (somente 20 km de distância) (KLAPPENBACH, 1961), aonde existem ambientes similares aos do Uruguai para a ocorrência da espécie (Banhado do Salies e banhados e campos arenosos da Barra do Chuí e Hermenegildo, obs. pessoal). Apesar disso, a condição de DD no Uruguai, aliado a falta de registros recentes neste país e dados populacionais, sugerem que esta espécie apresenta baixa probabilidade de ser registrada no RS futuramente.

A inclusão de espécies potenciais para compor uma listagem de uma determinada área geográfica sob análise de sua diversidade, apresenta um forte componente especulativo. Apesar disso, tem sido uma prática em estudos tratando de faunas regionais a inclusão de espécies potenciais como futuras espécies a serem registradas em uma área sob investigação (e. g., BRUSQUETTI & LA VILLA, 2006; DE LA RIVA ET AL. 2000). A utilização de ferramentas como modelagem de distribuição de espécies (MDEs), conforme realizado para os anfíbios na Savana Uruguaia (ZANK, 2012), por exemplo, pode ser interessante abordagem para localizar áreas adequadas para novos registros de espécies, bem como, subsidiar informações para implementação de políticas, seja através de estratégias de conservação de espécies, escolha de áreas prioritárias e proposição de novas Unidades de Conservação.

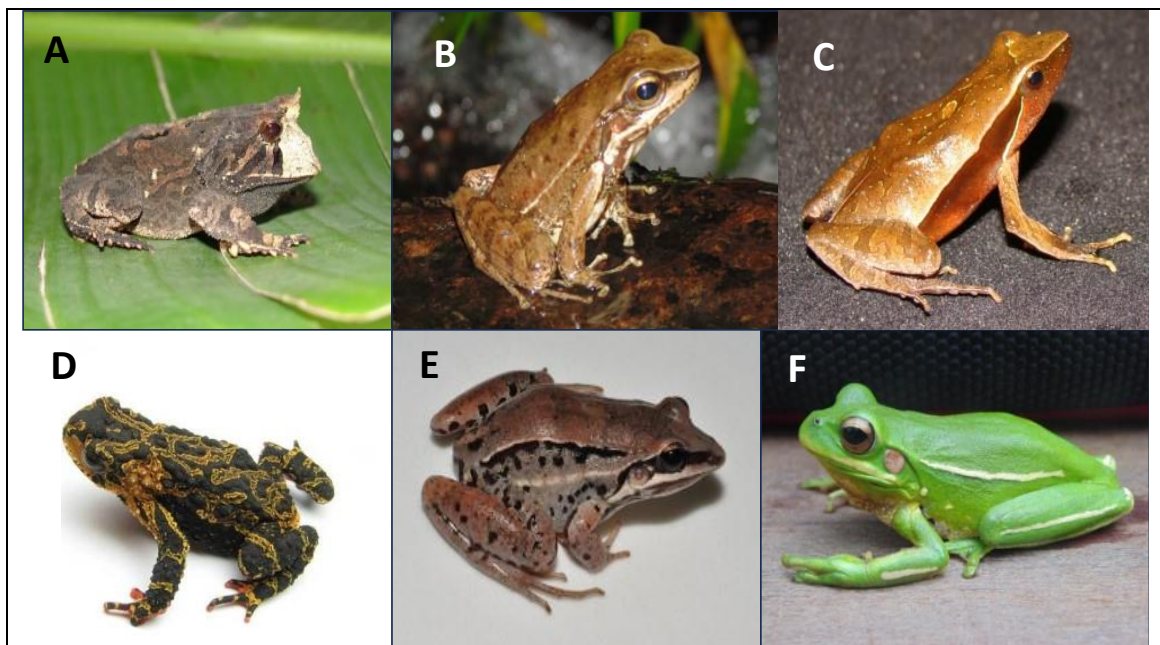


Figura 7. Anfíbios com potencial ocorrência distribuição no estado do Rio Grande do Sul: (A) *Proceratophrys boiei*, (B) *Hylodes perplicatus*, (C) *Physalalaemus laterestriga*, (D) *Melanophryniscus spectabilis*, (D) *Leptodactylus elenae*, (E) *Boana* cf. *prasina*. Fotos: (A, C e F) M. D. Freire, (B) Estevão Comitti, (D) Márcio Borges-Martins, (E) Ariovaldo A. Giaretta.

g. Comentários taxonômicos

Ceratophrys aurita.

A primeira citação de *Ceratophrys aurita* para o Rio Grande do Sul tem origem no trabalho de BOULENGER (1885), que indica a ocorrência de *C. dorsata* (sinônimo de *C. varia* e atualmente, *C. aurita*), a partir de coletas do Dr. Hermann Von Ihering enviadas para o Museu de História Natural britânico (BOULENGER, 1885A, 1885B, 1886), porém, sem mencionar a exata localidade de origem do material. Mais recentemente, BRAUN & BRAUN (1980) cita *Ceratophrys varia* (atualmente *C. aurita*) para os municípios de São Lourenço do Sul e Bagé, no estado do Rio Grande do Sul, com o material indicado para São Lourenço do Sul, provavelmente a partir dos estudos de Boulenger, e sem indicação de procedência do material referente a Bagé, sudoeste do Estado. Da mesma forma, logo após, LYNCH (1982) indica a distribuição de *C. aurita* para o Rio Grande do Sul apresentando um mapa de distribuição com três localidades, uma delas na região centro-sul do Estado (as margens do sistema Lagoa dos Pato, relacionada ao município de São Lourenço do Sul), além de outras duas, uma na fronteira sudoeste do Estado com o Uruguai (possivelmente o município de Santana do Livramento), e outra na região centro-norte do estado; segundo o autor, as localidades indicadas são oriundas de dados provenientes de literatura e revisão em coleções, porém, sem identificar quais estudos, coleções consultadas ou número tomo dos vouchers referente ao material citado (figura 9; LYNCH, 1982).

Ceratophrys aurita é uma espécie considerada típica de formações florestais da Mata Atlântica, apresentando hábito críptico, ocorrendo associada a serrapilheira de florestas e, portanto, de difícil visualização, sendo encontrada ocasionalmente em eventos

de reprodução do tipo explosiva (HEYER ET AL. 1990; CARAMASCHI, 1998; FAIVOVICH ET AL. 2014).

Desta forma, verificamos que alguns dos municípios indicados por BRAUN & BRAUN (1980) e LYNCH (1982) causam uma certa ambiguidade, não dando suporte para as ocorrências apresentadas por estes autores, pois se encontram em áreas com predominância de ambientes campestre inseridos no bioma Pampa (Bagé, “Santana do Livramento”) e que não apresentam ambientes propícios para a ocorrência desta espécie.

Apesar disso, através da nossa pesquisa na coleção do Museu britânico (British Museum, Natural History, Londres) localizamos material mencionado por BOULENGER (1885,1886) e BRAUN & BRAUN (1980), como procedente de coletas no Rio Grande do Sul (número tombo: 1882.10.4.1; indivíduo fêmea, coletado por H. v. Ihering), sem indicação da localidade de coleta no catálogo. Pode-se especular que este registro de *C. aurita* para o Estado seja referente a coletas no município de São Lourenço do Sul, devido ao fato de Ihering ter residido nesta localidade (“S. Lorenzo, on the southern border of the Lagoa dos Patos”; BOULENGER 1885B), atualmente município de São Lourenço do Sul, localizado na região centro-sul do Estado, aonde ao final do século 19 (1880-1892), Ihering concentrou seus estudos e trabalhos de coleta de fauna diversa (MALABARBA, 1989; LOPES & PODGORGNY, 2014). Ressaltamos, que apesar do município de São Lourenço do Sul estar inserida no bioma Pampa, existem na região áreas de Floresta Estacional Semidecidual associadas a formações campestres (Estepe) e matas de galeria junto ao rio Camaquã, tributário da Lagoa dos Patos, que na época dos estudos e coletas de Ihering encontravam-se íntegras, logo, esta localidade poderia ter abrigado ambientes propícios para a distribuição da espécie.

Recentemente um registro histórico de *C. aurita* foi localizado para a região centro-norte do RS (município de Cruz Alta) na coleção científica do MZUSP (Augusto-

Alves et al. 2023), reforçando a validação da ocorrência da espécie para o Estado. De qualquer forma, ainda residem dúvidas acerca da origem do material citado de *C. aurita* para os municípios localizados ao sul (Bagé; BRAUN & BRAUN, 1980) e a sudoeste do Estado (provavelmente Santana do Livramento; LYNCH, 1982).

Espécies de *Boana* do grupo *pulchellus*.

O estudo realizado por FAIVOVICH ET AL. (2021) e colaboradores aportou importantes dados acerca da diversidade, taxonomia e relações filogenéticas das espécies de pererecas contidas no grupo de *Boana pulchellus*, que no estado do Rio Grande do Sul estão representadas por diversas espécies (11 espécies). Quatro clados foram definidos dentro do grupo de *B. pulchellus* (*sensu* FAIVOVICH ET AL. 2021) e podem ser organizados de acordo com as espécies do RS, em: Clado de *B. semiguttata* (*B. semiguttata*, *B. curupi*, *B. joaquina*, *B. stellae*); Clado de *B. polytaenia* (*B. leptolineata*); Clado de *B. prasina* (*B. bischoffi*, *B. caingua*, *B. guentheri*, *B. marginata* e *B. prasina*), além de *B. pulchellus* agrupada como clado irmão do clado de *B. prasina*. Alguns resultados encontrados em FAIVOVICH ET AL (2021) indicam uma mudança no cenário referente a diversidade e conhecimento das espécies do grupo de *B. pulchellus* para o RS, conforme ilustramos sucintamente a seguir.

Dentre as espécies do clado de *B. semiguttata*, composto por espécies associadas a riachos, a primeira espécie que merece comentários acerca do aumento considerável de sua distribuição geográfica é *Boana stellae* (PINHEIRO, 2017; FAIVOVICH ET AL. 2021; GETELINA, 2022; WIDHOLZER & PRIETO-TORRES, 2022). *B. stellae* era considerada endêmica do RS desde a sua descrição (KWET, 2008) e, portanto, avaliada como DD em relação ao seu status de conservação na avaliação regional no Estado do RS (LIVE, 2014),

devido a sua distribuição ser conhecida somente da sua localidade-tipo (localidade-tipo, Sininbú, Rio Grande do Sul; KWET, 2008). Alguns estudos aportaram novos registros de ocorrência para o RS (municípios de Vacaria, Dois Lagedos, FAIVOVICH ET AL. 2021; Parque Estadual do Turvo, município de Derrubadas, Parque Natural municipal de Sertão, município de Sertão; GETELINA, 2022), bem como, novos registros para SC e PR (GETELINA, 2022) e algumas localidades na província de Misiones, Argentina (FAIVOVICH ET AL. 2021; GETELINA, 2022; WIDHOLZER & PRIETO-TORRES, 2022). Sob o ponto de vista de mudanças no status de conservação das populações de *B. stelae*, a espécie agora não é mais considerada endêmica do Estado, ocorrendo em área geográfica maior e em cinco localidades no RS, assim, uma nova avaliação do seu status regional (nacional e mundial) e reconhecimento de potenciais impactos mostram-se importantes ações futuras.

Informações referentes a *B. semiguttata* (Figura 2F) também indicam a sua ocorrência no estado do RS, a partir de material coletado em uma única localidade, no município de São Francisco de Paula. De acordo com FAIVOVICH ET AL. (2021), este clado é composto por espécies com taxonomia bastante complexa e alta diversidade genética, resultando em problemas de delimitação de espécies, sugerindo que o entendimento da diversidade acerca destas espécies está longe de uma solução.

O clado de *Boana prasina* dentro do grupo de *B. pulchellus*, segundo análises realizadas em FAIVOVICH ET AL. (2021), revelou uma nova espécie (*Boana* sp. 5) que potencialmente pode ocorrer no RS. KWET & MIRANDA (2001) registraram a espécie *B. prasina* (Figura 7F) para o RS a partir de material proveniente do município de Bom Jesus, nordeste do estado e próximo à fronteira com o estado de Santa Catarina. De acordo com FAIVOVICH ET AL. (2021), uma análise filogenética dentro do clado de *B. prasina* indicou uma nova espécie similar a *B. prasina* e que ainda não está descrita formalmente

(*Boana* sp. 5), com coletas provenientes dos municípios de Bom Jardim da Serra e Campo Belo do Sul, Santa Catarina. Acreditamos que *B. prasina* de Bom Jesus no RS provavelmente é a mesma espécie que *Boana* sp. 5 (*sensu* FAIVOVICH ET AL. 2021), visto que o município de Bom Jardim da Serra (SC) e Bom Jesus (RS), distam somente 40 km de distância entre si, sem aparente barreira para dispersão desta espécie.

Physalaemus nanus.

Physalaemus nanus (Figura 8A) apresenta distribuição restrita aos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná em elevações de 0-1200 m de altitude, aonde ocorre em ambientes de Floresta Ombrófila Densa e Mista, em áreas do Planalto Meridional, encosta atlântica e em áreas de baixada na planície costeira (BRAUN ET AL. 1981; GONSALES, 2008; KWET ET AL. 2010; HADDAD ET AL. 2013; CRIVELARI ET AL. 2014).

Registros de espécimes depositadas em coleções científicas do Rio Grande do Sul indicam a existência de poucos indivíduos (20 espécimens) em somente quatro localidades (Cambara do Sul, São Francisco de Paula, Maquine, Três Forquilhas). Algumas populações são conhecidas em Unidades de Conservação da região nordeste, dentre elas a PARNA dos Aparados da Serra, em Cambará do Sul (BRAUN ET AL. 1981), REBIO Serra Geral (Plano de manejo da unidade; MCN 13803) e Centro de pesquisa e Conservação da Natureza Pró-Mata (KWET ET AT. 2010), em São Francisco de Paula. *P. nanus* pertence ao grupo de *Physalaemus signifer*, constituído por espécies com distribuição predominante na Floresta Atlântica brasileira e com algumas espécies crípticas (*P. angrensis*, *P. nanus*, *P. spiniger* e *P. atlanticus*), sendo morfológicamente indistinguíveis e separadas pelo canto de anúncio que é distinto entre elas (HADDAD &

POMBAL, 1998; HADDAD AND SAZIMA, 2004; WEBER ET AL. 2005). Estudos recentes em algumas populações do Planalto Catarinense indicam que espécimens encontrados em Lebon Regis e Campo Alegre (SC) são muito similares morfologicamente a *P. nanus*, com algumas diferenças em alguns atributos do canto (Lebon Regis, LINGNAU, 2009; Campo Alegre, MARIOTO, 2014; MARIOTO ET AL. 2022). Nestes estudos, e em nossa análise preliminar, os valores de Frequência Dominante do canto destas populações foram bastante superiores aos previamente conhecidos (HADDAD & POMBAL, 1998; HEPP & POMBAL, 2021), indicando divergências importantes nos parâmetros do canto e sugerindo que estas populações podem se tratar de uma espécie distinta da espécie nominal. Assim, faz-se necessário comparar os cantos de anúncio de populações de áreas de baixada atlântica, com áreas de Planalto, ao longo da distribuição da espécie, incluindo populações provenientes da localidade-tipo (Lages, Santa Catarina), a fim de aclarar o status taxonômico de *P. nanus* em relação as populações do RS.

***Pleurodema bibronii*.**

Pleurodema bibroni Tschudi, 1838 (Figura 8B) foi descrita originalmente de material do Uruguai (Montevideo) e desde sua descrição original tem sido objeto de substancial confusão taxonômica tratando de espécies do Chile, Argentina e Uruguai (*P. darwinii*, *P. granulosus*, *P. thaul* e *P. kriegi*) (veja KLAPPENBACH & LANGONE, 1992; FAIVOVICH ET AL. 2012; KOLENC ET AL. 2009; FROST, 2023). A distribuição de *P. bibroni* atualmente conhecida inclui zonas costeiras do sul e sudeste e zonas de Pradarias e Serranias da região central do Uruguai, centro-norte e nordeste do Rio Grande do Sul, centro-oeste de Santa Catarina e sudoeste do Paraná, além do Paraguai (Concepción) (BARRIO, 1977; LANGONE, 1994; NUNEZ ET AL. 2004; SILVANO ET AL. 2004; GONSALES, 2008; KOLENC ET AL. 2009; CRIVELARI ET AL. 2014; TREIN ET AL. 2014).

No estado do RS a única espécie atualmente conhecida para o gênero deve ser chamada de *P. aff. bibroni* segundo evidências recentes. Estudos de morfometria comparando material de *P. bibroni* do Uruguai (Rocha) e populações brasileiras (Rio Grande do Sul - coleção MCN) da região do Planalto meridional, indicaram se tratar de espécies distintas (CAMARGO ET AL. 2005) e outro estudo, baseado em filogenia com matriz fenética de dados (morfologia e dados morfométricos), concluiu que as populações do RS devem ser chamadas de *P. aff. bibroni*, tratando-se de uma espécie nova, ainda não descrita (FERRARO, 2009). Posteriormente, FAIVOVICH ET AL (2012) realiza nova análise filogenética do gênero baseada em dados moleculares e nucleares sem incluir material do Brasil, provavelmente devido a carência de sequências genéticas disponíveis para análise na época. Segundo nossa pesquisa no GenBank, atualmente para *P. bibroni*, só existem sequências genéticas de amostras provenientes de material do Uruguai (departamento de Rocha, Valizas).

Portanto, no sul do Brasil e Uruguai ocorrem duas populações alopátricas, com a primeira relacionada as espécies brasileiras distribuídas na região sul do Brasil (RS, SC e PR) em áreas de Floresta Atlântica Mista, e algumas áreas de transição com Floresta Atlântica de Interior, e a segunda no Uruguai, com populações associadas a zona costeira (Rio de La Plata e Oceano Atlântico) e em ambientes de “*Praderas*” (pradarias) e “*Serranias*”, ao longo da ecorregião da Savana Uruguaia neste país (KOLENC ET AL. 2009). A espécie do RS (*P. aff. bibroni*) é críptica, de hábito fossorial e associada a ambiente florestal, com atividade associada ao período do outono-inverno em atividade reprodutiva supostamente explosiva em eventos de máxima precipitação (KWET ET AL. 2010, LINGNAU, 2009), e pode ser considerada uma espécie rara, devido ao baixo números de registros e localidades conhecidas ao longo de sua pequena área de distribuição nos três estados do sul do Brasil em áreas de Floresta Atlântica de Araucaria

e áreas associadas (BRAUN, 1973; GONSALES, 2008; LINGNAU, 2009; CRIVELLARI ET AL. 2014; TREIN ET AL. 2014).

A primeira citação de *P. bibroni* para o Estado foi realizada por JIMENEZ DE LA ESPADA (1875), oriunda de expedição realizada no século 19 e com a origem do material indicando o estado do RS, sem maiores detalhes (GONZÁLEZ FERNÁNDEZ, 2006). Aproximadamente 100 anos depois, BRAUN (1973) cita coletas realizadas em algumas localidades na região da Serra gaúcha e da região dos Campos de Cima da Serra, nordeste do estado. Para o RS atualmente são conhecidos o maior número de registros (31 indivíduos) ao longo de sua distribuição na região sul do Brasil, com sete localidades na Serra gaúcha (Caxias do Sul, Farroupilha e Nova Petrópolis) e na região dos Campos de Cima da Serra (Cambará do Sul, São Francisco de Paula, Bom Jesus e Vacaria), com o último registro desta espécie ocorrido em 2009, município de Caxias do Sul (I. Machado, comun. pessoal; MCP 10346; Figura 8C). O registro de Cambará do Sul é do Parque Nacional dos Aparados da Serra (Itaimbezinho; 1962) e um dos registros de São Francisco de Paula é proveniente da FLONA de São Francisco de Paula (UFMG-AMP 16715), ambas áreas de Unidades de Conservação do Estado.

Mais adiante, em sua publicação de anfíbios do RS, BRAUN & BRAUN (1980) adiciona aos registros anteriores, um novo registro de coleta de espécime de *P. bibroni* proveniente do município de Cidreira, região associada a Planície costeira do RS. Nossa revisão de material proveniente do município de Cidreira na coleção do MCN citado em BRAUN & BRAUN (1980), além de consulta em demais registros obtidos pelo pesquisador entre 1973 e 1980 para este município, não localizaram espécimens de *P. bibroni* na coleção do MCN para esta localidade. Nossa pesquisa identificou que Cidreira provavelmente era uma área de constantes expedições de coleta realizadas por Braun e colaboradores, já que em um intervalo de 7 anos (1973-1980), este pesquisador coletou

mais de 500 indivíduos de 15 espécies distintas de anfíbios, porém nenhuma delas *P. bibronii*, ocorrendo somente nestas amostragens espécies de gêneros afins (*i.e.*, *Physalaemus biligonigerus*). Assim, concluímos que a citação de Braun para o município de Cidreira foi um erro de procedência ou incorreta identificação de material.

Apesar disso, não pode ser descartada a possibilidade de um segundo cenário relacionado a distribuição de duas populações distintas de *P. bibroni* (*lato sensu*) no RS: *i*) populações localizadas no Planalto meridional do RS (e também SC e PR) e *ii*) populações costeiras restritas ao Uruguai e sul do Brasil de forma potencial. Esta questão já havia sido tratada anteriormente, despertando dúvidas sobre a hipótese de um hiato de distribuição entre as populações do sudeste uruguaio (zona costeira) e aquelas do nordeste do RS (zona florestada) (BARRIO 1977; KOLENC ET AL. 2009), sendo proposto que a falta de registros de ocorrência de *P. bibroni* em um maior número de locais na região da Planície costeira do RS seriam carência de amostragens na área (KOLENC ET AL. 2009). Provavelmente, esta confusão perdurou por mais de 40 anos devido ao registro errôneo de Cidreira (BRAUN & BRAUN, 1980). Da mesma forma que mencionado para outra espécie associada a áreas costeiras do Uruguai (*Nictimantis siemersi*), acreditamos que existe alguma possibilidade de futuramente a espécie nominal (*P. bibronii*) vir a ser registrada no RS. Este fato está baseado na proximidade entre os registros uruguaio (Valizas, Dept. de Rocha; KOLENC ET AL. 2009; Cerro Verde – Parque Nacional de Santa Teresa, BARDIER & MANEYRO, 2015) e áreas do litoral sul do Brasil, nas localidades do Hermenegildo e Barra do Chuí (Banhado do Salies), nos municípios de Santa Vitória do Palmar e Chuí, extremo sul do Brasil, aonde existem áreas propícias para a ocorrência de *P. bibroni* (M. D. Freire, obs. pessoal).

Dendrophryniscus krausae.

Esta espécie está relacionada a alguns casos na literatura em que foi detectada em análises genéticas baixa divergência ou mesmo nenhuma divergência genética entre táxons afins (*Dendrophryniscus krausae* vs. *D. berthaltzae*; FOUQUET ET AL. 2012), sugerindo maior investigação para aclarar a correta identidade e subsidiar a validade de *D. krausae* (Figura 2E). Inicialmente, esta espécie foi registrada por BRAUN & BRAUN (1979) (como *D. brevipolicatus*) para o município de Cambará do Sul (Parque Aparados da Serra, Itaimbezinho) no RS. Posteriormente, GARCIA & VINCIPROVA (2003) examinaram o espécimen de BRAUN & BRAUN (1979) (contendo jovens e fêmeas, veja CRUZ & FUSINATO, 2008), e sugeriram que seria morfologicamente mais similar a *D. berthaltzae* e mencionaram a espécie como ocorrendo no nordeste do RS. CRUZ & FUSINATO (2008) descrevem *Dendrophryniscus krausae* para o município de Maquiné (Reserva Biológica da Serra Geral) e após comparação direta, assumem que indivíduos de BRAUN & BRAUN (1979) são na verdade *D. krausae*. Logo após a descrição de *D. krausae*, FUSINATO ET AL. (2008) publicam artigo tratando da distribuição geográfica de *D. berthaltzae*, indicando registros de ocorrência próxima ao RS (Novo Horizonte, SC). Mais recentemente, *D. berthaltzae* foi registrada em diversas localidades na região da Floresta Atlântica Ombrófila Densa de SC, próxima à fronteira com o RS (Parque Estadual da Serra Furada, Bom Jardim da Serra, Treviso, Siderópolis, Nova Veneza e Morro Grande; CERON ET AL. 2016; CERON ET AL. 2017).

Estudo tratando das relações filogenéticas das espécies do gênero *Dendrophryniscus* da Amazonia e Floresta Atlântica, analisou material de Santa Catarina de *D. berthaltzae* (Treviso) e *D. krausae* (Siderópolis), e concluiu que *D. berthaltzae* and *D. krausae* são espécies muito relacionadas, sinônimos ou o material analisado está

mal identificado para uma ou outra espécie, devido a elas demonstrarem valores de Bootstrap de 100% e posicionadas dentro do mesmo clado na árvore filogenética apresentada (FOUQUET ET AL. 2012). Mais recentemente, outro estudo tratando do status taxonômico de populações de *Dendrophryniscus brevipolicatus* da região sudeste do Brasil baseado em morfologia e análise molecular, incluindo *D. berthallutzae* e *D. krausae*, revalidou algumas espécies e descreveu novas espécies dentro do gênero *Dendrophryniscus*, porém sem adicionar material genético de *D. krausae* na análise (CRUZ ET AL. 2019). Provavelmente, a não inclusão de material proveniente da localidade-tipo (Maquiné) na análise deste estudo, se deve ao fato de que não foi coletado e depositado tecido em coleções herpetológicas para análise genética quando da descrição da espécie (P. Colombo, comum. pessoal). Fato corroborado para a espécie ainda hoje, visto que não existe material genético disponível de *D. krause* para populações do estado do RS, segundo consulta realizada no GenBank.

Neste sentido, existe um impasse acerca da identidade taxonômica de *D. krausae* em relação a *D. berthallutzae*, sendo necessário a obtenção e posterior sequenciamento de material genético proveniente da localidade-tipo de *D. krausae*, visando elucidar a sua correta identidade e assim, melhor avaliar o seu status de conservação no âmbito regional (RS) e nacional, visto que, devido a carência de dados populacionais e ser somente conhecida de duas localidades no RS (Maquiné e Cambará do Sul), esta espécie esta enquadrada como DD em relação ao seu status de conservação (LIVE, 2014).

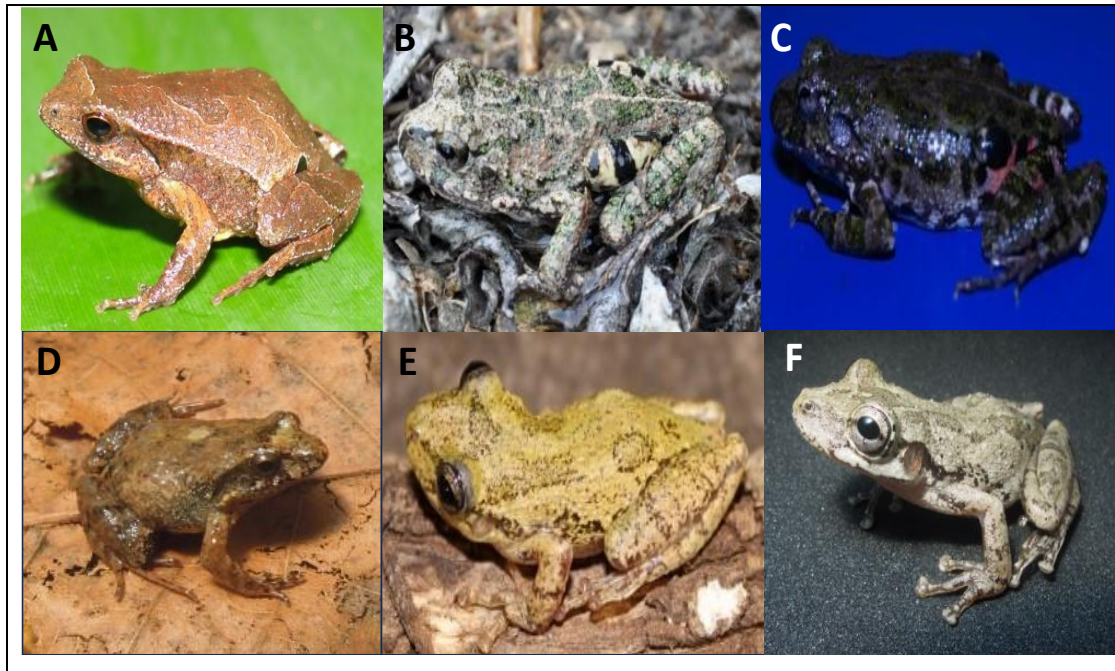


Figura 8. Anfíbios com ocorrência distribuição no estado do Rio Grande do Sul: (A) *Physalaemus nanus*, (B) *Pleurodema aff. bibroni*, (C) *Pleurodema aff. bibroni*, (D) *Physalaemus* sp. nova., (E) *Scinax granulatus*, (E) *Scinax* sp. nova. Fotos: (A) M. D. Freire, (B) E. M. L. Gonsales, Vargem Bonita, Santa Catarina, (C e F) P. Colombo, (D) Matias M. Malleret

***Melanophryniscus* spp.**

Conforme mencionado anteriormente, o RS abriga aproximadamente 40% das espécies atualmente reconhecidas para o gênero *Melanophryniscus* Gallardo, 1961, determinando assim, o Estado como importante área de diversidade do gênero na América do Sul (BALDO ET AL. 2014; ZANK ET AL. 2014; FROST 2023). Apesar disso, o gênero *Melanophryniscus* é carente de um estudo filogenético abrangente. Afora um único estudo que explora as relações filogenética para o grupo de espécie de bromélias (grupo *moreirae*) (PIE ET AL. 2017), existe uma carência antiga sobre uma análise filogenética mais ampla para acessar as relações internas dentro dos grupos de espécies no gênero e assim, elucidar a taxonomia de algumas espécies de *Melanophryniscus* (BALDO ET AL.

2014). Adicionalmente, são conhecidas e documentadas inúmeras ameaças á diversas espécies e seus ambientes, resultando em categorização de status de conservação de ameaça (VU, EN e CR) à nível global, nacional e regional (RS) para grande número de espécies (LIVE, 2014; ZANK ET AL. 2014; BRASIL, 2022).

Destaca-se também para as espécies que ocorrem no RS, lacunas de conhecimento na distribuição de diversas espécies, algumas delas conhecidas de poucas localidades (*M. simplex*, COLOMBO ET AL. 2007; *M. macrogranulosus*, CAORSI ET AL. 2014; *M. sanmartini*; ZANK ET AL. 2013), ou com distribuição restrita (e.g., *M. admirabilis*, DI-BERNARDO ET AL. 2006), além de novas espécies ainda para serem descritas (BALDO ET AL. 2014; ZANK ET AL. 2014).

Estas questões em aberto acerca do gênero de modo geral, indica uma substancialmente mudança no nível de conhecimento da diversidade de espécies no gênero futuramente, com reflexos na diversidade de espécies do Rio Grande do Sul (e.g., ZANK ET AL. 2014; BALDO ET AL. 2014; CAORSI ET AL. 2021).

Melanophryniscus aff. *pachyrhynus* (grupo *tumifrons*)

Este sapinho-de-barriga-vermelha é uma espécie ainda não descrita e nomeada aqui como *Melanophryniscus* aff. *pachyrhynus* (Figura 2D). Esta espécie apresenta ocorrência confirmada para o estado, sendo mencionada em BALDO ET AL. (2014) como *Melanophryniscus* sp. 2 aff. *pachyrhynus*, e distinta das demais espécies conhecidas para o gênero até o momento. *M. aff. pachyrhynus* apresenta distribuição restrita no RS, com somente 4 localidades atualmente conhecidas (EEO=1852 km²), localizadas em áreas do bioma Pampa e em algumas áreas limítrofes na região centro-leste do estado associadas a Floresta Estacional (Glorinha, Gravataí, Santo Antônio da Patrulha, Viamão), sugerindo um status de conservação de Em Perigo. Ocorre em ambientes

florestais e de áreas abertas atualmente bastante fragmentados ao longo de sua pequena distribuição, com análises sugerindo perda significativa de sua área ao longo dos últimos anos (2000-2016) (HEIERMANN ET AL. 2018).

***Physalaemus* sp. nov (grupo *henselii*)**

Espécie de rã do gênero *Physalaemus* (*Physalaemus* sp. nov.; Figura 8D) associada ao grupo *henselii*, e que possui morfologia distinta das demais espécies de seu grupo morfológico (*P. fernandezae* e *P. henselii*), bem como, de espécies congêneres. De forma marcante, esta espécie possui vocalização de anúncio bastante peculiar (*i.e.*, diagnose acústica), além de apresentar hábito florestal exclusivamente associado a ambientes de matas típicas de Floresta Ombrófila Densa de terras baixas (*Mata Paludosa*) na região nordeste do estado.

***Scinax* sp. nov (Clado *ruber*)**

Espécie de perereca do gênero *Scinax* do Clado *ruber* associada ao complexo de espécies de *S. granulatus* (Figura 8E), previamente delimitada em MALLERET ET AL. (2022), sendo indicada neste estudo como uma linhagem distinta de *Scinax granulatus*, e assim, uma espécie candidata confirmada (CCS; *confirmed candidate species*), e aqui tratada como *Scinax* sp. nov. (Figura 8F).

Conclusões

Nosso estudo atualiza o conhecimento das espécies de anfíbios do estado do Rio Grande do Sul, sugerindo também espécies potenciais para serem registradas futuramente. Adicionalmente, é a primeira abordagem exploratória tratando dos padrões de distribuição dos anfíbios no Estado e suas ocorrências ao longo dos biomas Pampa e Mata Atlântica conjuntamente, permitindo um incremento acerca do conhecimento da riqueza, composição e distribuição de espécies no RS. Por fim, também sugerimos algumas áreas para amostragens futuras por apresentarem riqueza e composição de espécies ainda pouco conhecidas, bem como, exploramos a relação entre espécies ameaçadas e DDs e suas ocorrências ou não em Unidades de Conservação inseridas nos dois biomas do Estado, indicando aquelas espécies de anfíbios fora de UCs, portanto não protegidas, e também, destacamos aquelas UCs ainda sem plano de manejo e/ou fase inicial de elaboração de banco de dados de biodiversidade, inclusive para as espécies de anfíbios.

De acordo com DE LA RIVA ET AL. (2000), o primeiro passo para se estudar a diversidade de uma área geográfica qualquer é explorar o conhecimento relativo ao *estado de arte* de determinada fauna e descobrir o básico, ou como os autores pontuam, primeiro é importante “saber o que se sabe” e posteriormente, aprimorar as carências de informações ou lacunas de conhecimento das espécies de determinada área (Lacunas de conhecimento da Biodiversidade; HORTAL ET AL. 2015). O nosso estudo avançou significativamente acerca do conhecimento da fauna de anfíbios do estado do Rio Grande do Sul, mas como é característico deste tipo de estudo, aonde extensa área

geográfica é abordada sob rica fauna de espécies, diversas perguntas ainda ficaram sem respostas e seriam importantes linhas de investigação futura: Quantas espécies de anfíbios o Rio Grande do Sul pode abrigar? Estamos conservando os ambientes remanescentes de campo e florestas suficientemente para não perdermos a nossa diversidade de espécies? Nossas Unidades de Conservação protegem efetivamente a fauna de anfíbios? Aonde devemos amostrar para registrar novas espécies para o estado? Existem espécies de anfíbios ainda para serem descritas no estado do Rio Grande do Sul?

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARES, D. J., FERRARI, A., & BORGES-MARTINS, M., (2022). Geographic distribution patterns of amphibians and reptiles from the Uruguayan Savanna. **Systematics and Biodiversity**, **20**(1), 1-17.
- ALVES, S. D. S. (2019). **Filogeografia de anfíbios anuros dos campos subtropicais do sudeste da América do Sul** (Doctoral dissertation, Universidade Federal de Santa Maria).
- AMPHIBIAWEB. (2023). <<https://amphibiaweb.org>> University of California, Berkeley, CA, USA. Accessed 3 Jan 2023.
- ANDRÉ, T. C., CECHIN, S. Z., & DOS SANTOS, T. G. (2019). Anurans in the Brazilian Pampa biome: the first checklist from Biological Reserve of São Donato and a summary on actual knowledge of conservation units. **Herpetology Notes**, **12**, 1095-1103.
- ARRIETA D, BORTEIRO C, KOLENC F, LANGONE J.A. 2013. Anfíbios. Pp. 112–127 In: Especies Prioritarias para la Conservación en Uruguay. **Sistema Nacional de Áreas Protegidas**, Montevideo, Uruguay. 222 p
- AUGUSTO-ALVES ET AL. 2023. Giant and Phantom Frogs in the Atlantic Forest: Historical distribution and conservation implications *Journal for Nature Conservation*, <https://doi.org/10.1016/j.jnc.2023.126460>

- BAÊTA, D., GIASSON, L. O. M., POMBAL JR, J. P., & HADDAD, C. F. B. (2016). Review of the rare genus *Phrynomedusa* Miranda-Ribeiro, 1923 (Anura: Phyllomedusidae) with description of a new species. **Herpetological monographs**, 30(1), 49-78.
- BALDO, D., & BASSO, N. G., (2004). A new species of *Melanophryniscus* Gallardo, 1961 (Anura: Bufonidae), with comments on the species of the genus reported for Misiones, northeastern Argentina. **Journal of Herpetology**, 38(3), 393-403.
- BALDO, D., CANDIOTI, F. V., HAAD, B., KOLENC, F., BORTEIRO, C., PEREYRA, M. O., ... & PIE, M. R., (2014). Comparative morphology of pond, stream and phytotelm-dwelling tadpoles of the South American Redbelly Toads (Anura: Bufonidae: *Melanophryniscus*). **Biological Journal of the Linnean Society**, 112(3), 417-441.
- BALDO, D., ARAUJO-VIEIRA, K., CARDOZO, D., BORTEIRO, C., LEAL, F., PEREYRA, M. O., ... & FAIVOVICH, J. (2019). A review of the elusive bicolored iris Snouted Treefrogs (Anura: Hylidae: *Scinax uruguayus* group). *Plos one*, 14(9), e0222131.
- BARDIER, C. I., & MANEYRO, R. E., (2015). Inventory and conservation priorities for amphibian species from Cerro Verde (Rocha, Uruguay) and surroundings. **Check List**, 11(2), 1581-1581.
- BARRIO, A., (1977). Aportes para la elucidación del “status” taxonómico de *Pleurodema bibroni* Tschudi y *Pleurodema kriegi* (Müller) (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). **Physis**, 37(93), 311-331.
- BASTOS, R.P. & HADDAD, C.F.B. (1995). Vocalizações e interação acústica de *Hyla elegans* (Anura: Hylidae) durante a atividade reprodutiva. **Naturalia** 20: 165-176.
- BASTOS, R.P. & HADDAD, C.F.B., (1996). Breeding Activity of the Neotropical Treefrog *Hyla elegans* (Anura, Hylidae). **Journal of Herpetology** 30: 355-360.
- BERED, A. R., FERRARO, L. W., & PAGEL, S. M., (2007). Zoneamento ambiental para atividade de silvicultura. **Secretaria Estadual do Meio Ambiente**, Fundação Estadual de Proteção Ambiental, Fundação Zoobotânica, Porto Alegre, 78(143), 101.
- BERTOLUCI, J., BRASSALOTI, R.A., RIBEIRO JR., J.W., VILELA, V.M.F.N. & SAWAKUCHI, H.O., (2007). Species composition and similarities among anuran assemblages of forest sites in southeastern Brazil. **Sci. agric.** 64(4):364-374.

- BOLZAN, A. M. R., SACCOL, S. A., & SANTOS, T. G. D. (2016). Composition and diversity of anurans in the largest conservation unit in Pampa biome, Brazil. **Biota Neotropica**, **16**.
- BORGELT, J., DORBER, M., HØIBERG, M. A., & VERONES, F., (2022). More than half of data deficient species predicted to be threatened by extinction. **Communications biology**, **5**(1), 1-9.
- BOULENGER, G. A. (1885A). XVII.—A list of reptiles and batrachians from the province Rio Grande do Sul, Brazil, sent to the Natural-History Museum by Dr. H. von Ihering. **Journal of Natural History**, *15*(87), 191-196.
- BOULENGER, G. A. (1885B). IX.—Second list of reptiles and batrachians from the province Rio Grande do Sul, Brazil, sent to the Natural-History Museum by Dr. H. von Ihering. **Journal of Natural History**, *16*(92), 85-88.,
- BOULENGER, G. A. (1886). A synopsis of the reptiles and batrachians of the Province Rio Grande do Sul, Brazil. **Ann. Mag. nat. Hist.**, **18**: 423-445.
- BRACK, P., (2009). Vegetação e paisagem do Litoral Norte do Rio Grande do Sul: exuberância, raridade e ameaças à biodiversidade. ***Ecosistemas e biodiversidade do Litoral Norte do RS. Porto Alegre, Nova Prova***, 32-55.
- BRANDÃO, T., TREVISAN, R., & BOTH, R., (2007). Unidades de conservação e os campos do Rio Grande do Sul. **Revista Brasileira de Biociências**, **5**(S1), 843-845.
- BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Gabinete do Ministro. Portaria MMA nº 148, de 7 de junho de 2022. Altera os Anexos da Portaria nº 443, de 17 de dezembro de 2014, da Portaria nº 444, de 17 de dezembro de 2014, e da Portaria nº 445, de 17 de dezembro de 2014, referentes à atualização da Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 8 jun. 2022. p. 74.
- BRAUN, C. A. S. (1973). Sobre a ocorrência de *Pleurodema bibronii* Tschudi, 1828 no estado do Rio Grande do Sul, Brasil (Anura, Leptodactylidae). **Iheringia (Série Zoologia)**, **44**, 28-31.
- BRAUN, P. C., & BRAUN, C. A. S., (1979). Presença de *Dendrophryniscus brevipollicatus* Espada, 1870 no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil. (Anura, Bufonidae). **Iheringia, Série Zoologia**, **54**, 47-52.

- BRAUN, P. C.; BRAUN, C. A. S. & M. D. PINEDA., (1981). Ocorrência de *Physalaemus nanus* (Boulenger, 1888), no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil (Anura, Leptodactylidae). **Iheringia, Ser. Zool., (54):**99-104.
- BRAUN, P.C. & BRAUN, C.A.S., (1980). Lista prévia dos anfíbios do Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia, 56**, 121-146.
- BROOKS, T.M.; MITTERMEIER, R.A.; FONSECA, G.A.B.; GERLACH, J. M.; HOFFMANN, J.F.; MITTERMEIER, C.G.; PILGRIM, J.D. & A.S.L. RODRIGUES., (2006). Global Biodiversity Conservation Priorities. **Science 313**: 58-61.
- BRUSQUETTI, F. & E. LAVILLA., (2006). Lista comentada de los anfibios de Paraguay. **Cuadernos de Herpetología 20**:3-79.
- BRUSQUETTI, F., THOMÉ, M. T. C., CANEDO, C., CONDEZ, T. H., & HADDAD, C. F., (2013). A New *Ischnocnema* (Brachycephalidae) from Northern Rio de Janeiro, Brazil. **Herpetologica, 69(2)**, 175-185.
- CAMARGO, A., R. MANEYRO AND J.A. LANGONE., (2005). Análisis morfológico de las poblaciones uruguayas y brasileñas de *Pleurodema bibroni* Tschudi, 1838 (Anura, Leptodactylidae). Actas, **VIII Jornadas de Zoología del Uruguay, Montevideo, 154 pp.**
- CAORSI, V. Z., COLOMBO, P., FREIRE, M. D., AMARAL, I. B., ZANK, C., BORGES-MARTINS, M., & GRANT, T. G., (2014). Natural history, coloration pattern and conservation status of the threatened South Brazilian red bellied toad, *Melanophryniscus macrogranulosus* Braun, 1973 (Anura, Bufonidae). **Herpetology Notes, 7**, 585-598.
- CANAVERO, A., CARREIRA, S., LANGONE, J. A., ACHAVAL, F., BORTEIRO, C., CAMARGO, A., ... & ZIEGLER, L. (2010). Conservation status assessment of the amphibians and reptiles of Uruguay. **Iheringia. Série Zoologia, 100**, 05-12.
- CAORSI, V., BORDIGNON, D.W., MÁRQUEZ, R., BORGES-MARTINS, M., (2020). Advertisement call of two threatened red-bellied-toads, *Melanophryniscus cambaraensis* and *M. macrogranulosus* (Anura: Bufonidae), from the Atlantic Rainforest, southern Brazil. **Zootaxa 4894**, 206–220.
- CARAMASCHI, U. (1998). *Ceratophryx aurita* (RADDI, 1823). p. 473-475, in Machado, A. B. M., G. A. B. Fonseca, R. B. Machado, L. M. S. Aguiar & L. V. Lins (eds.), **Livro**

vermelho das espécies ameaçadas de extinção da fauna de Minas Gerais. Belo Horizonte: Fundação Biodiversitas, 605p.

- CARDOZO, D. E., LEME, D. M., BORTOLETO, J. F., CATROLI, G. F., BALDO, D., FAIVOVICH, J., ... & KASAHARA, S., (2011). Karyotypic data on 28 species of *Scinax* (Amphibia: Anura: Hylidae): diversity and informative variation. **Copeia**, **2011(2)**, 251-263.
- CARREIRA S, MANEYRO R., (2019). Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles del Uruguay. **DINAMA-MVOTMA**, Montevideo, Uruguay. 206 p.
- CARVALHO, P.C.F; BATELLO, C., (2009). Access to land, livestock production and ecosystem conservation in the Brazilian Campos biome: the natural grasslands dilemma. **Livestock Science Vol. 120 (1)**: 158-162.
- CARVALHO-E-SILVA, S.P., IZECKSOHN, E. & CARVALHO-E-SILVA, A.M.P.T., (2000). Diversidade e ecologia de anfíbios em restingas do sudeste brasileiro. In: **Ecologia de restingas e lagoas costeiras** (F.A. Esteves & L.D. Lacerda, eds). NUPEM/UFRJ, Macaé, p. 89-97.;
- CARVALHO-ROCHA, V., PERES, C. A., & NECKEL-OLIVEIRA, S., (2021). Habitat amount and ambient temperature dictate patterns of anuran diversity along a subtropical elevational gradient. **Diversity and Distributions**, **27(2)**, 344-359.
- CASTRO, D.; MELLO, R. S. P. (ORG.). **Atlas ambiental da bacia hidrográfica do Rio Tramandaí. Porto Alegre: Via Sapiens**, 2013.
- CEBALLOS, G., GARCÍA, A., & EHRlich, P. R., (2010). The sixth extinction crisis: Loss of animal populations and species. **Journal of Cosmology**, **8(1821)**, 31.
- CERON, K., DE BONA MARTINS, H., & ZOCHE, J. J. (2016). Anurans of a remnant forest in Urussanga, Santa Catarina, southern of Brazil. **Check List**, **12(6)**
- CERON, K., DE OLIVEIRA OLIVO, M., MENDONÇA, R. Á., CARVALHO, F., & ZOCHE, J. J., (2016). Herpetofauna de uma Área de Floresta Atlântica no Sul do Brasil. **Tecnologia e Ambiente**, **22**.
- CERON, K., LUCAS, E. M., & ZOCHE, J. J., (2017). Anurans of Parque Estadual da Serra Furada, Santa Catarina, Southern Brazil. **Herpetology Notes**, **10**, 287-296.

- CÉSPEDEZ, J.A.; AGUIRRE, R.H. Y ÁLVAREZ, B.B., (1995). Composición y distribución de la anfibiofauna de la provincia de Corrientes (Argentina). **Facena 11**: 25-49.
- COLOMBO, P.; ZANK, C.; SCHMIDT, L.E.C.; GONÇALVES, G. & MARINHO, J.R., (2007). Amphibia, Anura, Bufonidae, *Melanophryniscus simplex*: Distribution extension. **Check List, 3**, 305-307.
- COLOMBO, P., ZANK, C., BÜHLER, D., SCHOSSLER, M., BALESTRIN, R. L., SANTOS, R. R., ... & VERRASTRO, L. (2010). Anura, Hylidae, *Dendropsophus nahdereri* (Lutz and Bokermann, 1963): Distribution extension and new state record. **Check list, 6(3)**, 429-431.
- CORDEIRO, J. L., & HASENACK, H., (2009). Cobertura vegetal atual do Rio Grande do Sul. **Campos Sulinos: conservação e uso sustentável da biodiversidade**, 285-299.
- CRIVELLARI, L. B., LEIVAS, P. T., LEITE, J. C. M., DA SILVA GONÇALVES, D., MELLO, C. M., DE CERQUEIRA ROSSA-FERES, D., & CONTE, C. E., (2014). Amphibians of grasslands in the state of Paraná, southern Brazil (Campos Sulinos). **Herpetology Notes, 7**, 639-654.
- CRUZ, C. A. G., CARAMASCHI, U., FUSINATTO, L. A., & BRASILEIRO, C. A., (2019). Taxonomic review of *Dendrophryniscus brevipollicatus* Jiménez de la Espada, 1870, with revalidation of *D. imitator* (Miranda-Ribeiro, 1920) and *D. lauroi* Miranda-Ribeiro, 1926, and description of four new related species (Anura, Bufonidae). **Zootaxa, 4648(1)**, 027-062.
- CRUZ, C.A.G. & FUSINATTO, L.A., (2008). A new species of *Dendrophryniscus* Jiménez de la Espada, 1871 (Amphibia, Anura, Bufonidae) from the Atlantic Rain Forest of Rio Grande do Sul, Brazil. **South American Journal of Herpetology, 3**, 22–26.
- DE LA RIVA, I., KÖLHER, J., LÖTTERS, S. & REICHLÉ, S., (2000). Ten years of research on Bolivian amphibians: updated checklist, distribution, taxonomic problems, literature and iconography. **Revista Española de Herpetología, 14**: 19-164.
- DEAN, W. (1996). A ferro e fogo - **A história e a devastação da Mata Atlântica Brasileira**. São Paulo, Companhia das Letras, 484p.
- DIAS, I. R., MEDEIROS, T. T., NOVA, M. F. V., & SOLÉ, M., (2014). Amphibians of Serra Bonita, southern Bahia: a new hotpoint within Brazil's Atlantic Forest hotspot. **ZooKeys, (449)**, 105.

- DI-BERNARDO, M., MANEYRO, R., & GRILLO, H., (2006). New species of *Melanophryniscus* (Anura: Bufonidae) from Rio Grande Do Sul, Southern Brazil. **Journal of herpetology**, **40(2)**, 261-266.
- DUELLMAN, W. E., (1988). Patterns of species diversity in anuran amphibians in the American tropics. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 79-104.
- FAIVOVICH, J., FERRARO, D. P., BASSO, N. G., HADDAD, C. F., RODRIGUES, M. T., WHEELER, W. C., & LAVILLA, E. O., (2012). A phylogenetic analysis of *Pleurodema* (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae) based on mitochondrial and nuclear gene sequences, with comments on the evolution of anuran foam nests. **Cladistics**, **28(5)**, 460-482.
- FAIVOVICH, J., NICOLI, L., BLOTTO, B. L., PEREYRA, M. O., BALDO, D., BARRIONUEVO, J. S., ... & HADDAD, C. F. (2014). Big, bad, and beautiful: phylogenetic relationships of the horned frogs (Anura: Ceratophryidae). **South American Journal of Herpetology**, **9(3)**, 207-227.
- FAIVOVICH, J., P. PINHEIRO, L. PEREYRA, D. BALDO, A. MUÑOZ, S. REICHLER, R. BRANDÃO, A. GIARETTA, C. TEREZA, J. CHAPARRO, D. BAÊTA, R. LIBARDI, J. BALDO, E. LEHR, W. WHEELER, P. GARCIA & C.F. HADDAD., (2021). Phylogenetic relationships of the *Boana pulchella* Group (Anura: Hylidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution** **155**:1- 18.
- FERRARO, D. P., (2009). Relaciones filogenéticas y biogeográficas de las especies del género *Pleurodema* (Amphibia: Anura: Leiuperidae) (**Doctoral dissertation, Universidad Nacional de La Plata**). 224 p
- FERREIRA, R. B., MÔNICO, A. T., DA SILVA, E. T., LIRIO, F. C. F., ZOCCA, C., MAGESKI, M. M., ... & SILVA-SOARES, T., (2019). Amphibians of Santa Teresa, Brazil: the hotspot further evaluated. **ZooKeys**, 857, 139.
- FONSECA, G.A.B., (1985). The vanishing Brazilian Atlantic Forest. **Biological Conservation**, **London**, **34 (1)**: 17-34.
- FONTE, L. F. M. DA, M. ABADIE, T. MENDES, C. ZANK, M. BORGES-MARTINS., (2014). The Times they are a-changing: How a Multi-Institutional Effort Stopped the Construction of a Hydroelectric Power Plant that Threatened a Critically Endangered Red-Belly Toad in Southern Brazil. **FrogLog** **22(4)**:18-21.

- FOUQUET, A., RECODER, R., TEIXEIRA JR, M., CASSIMIRO, J., AMARO, R.C., CAMACHO, A., DAMASCENO, R., CARNAVAL, A.C., MORITZ, C., RODRIGUES, M.T., (2012). Molecular phylogeny and morphometric analyses reveal deep divergence between Amazonia and Atlantic Forest species of *Dendrophryniscus*. **Molecular Phylogenetics and Evolution** **62**: 826–838.
- FREIRE, M. D; COLOMBO, P.; ZANK, C. & MODKOWSKI, S. P., (2016). Southermost records of the anurans, *Chiasmocleis leucosticta* (Boulenger, 1888) (Microhylidae) and *Dendropsophus wernerii* (Cochran, 1952) (Hylidae), in the Atlantic Forest, Brazil. **Herpetology Notes**, volume **9**: 149-155.
- FROST, D.R. (2023). Amphibian Species of the World: An Online Reference. Version 6.1. **American Museum of Natural History, USA**. Disponível em: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. Acesso em dezembro de 2022.
- FUSINATTO, L. A., CRUZ, C. A., & GARCIA, P. C., (2008). Amphibia, Anura, Bufonidae, *Dendrophryniscus berthallutzae*: distribution extension and geographic distribution map. **Check List**, **4(3)**, 248-250.
- GARCIA, P. C. A., & VINCIPROVA, G., (2003). Anfíbios, p. 85-100 In CS Fontana, GA Bencke, and RE Reis. **Livro vermelho da fauna ameaçada de extinção no Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Edipucrs.**
- GARCIA, P.C.A.; LAVILLA, E.; LANGONE, J. & SEGALLA, M.V., (2007). Anfíbios da região subtropical da América do Sul, Padrões de distribuição. **Ciência e Ambiente**, **35**, 65-100.
- GARNETT, S. T., CHRISTIDIS, L., CONIX, S., COSTELLO, M. J., ZACHOS, F. E., BÁNKI, O. S., ... & THIELE, K. R., (2020). Principles for creating a single authoritative list of the world's species. **PLoS Biology**, **18(7)**.
- GERHARDT, K. (1994). Seedling development of four tree species in secondary tropical dry forest in Guanacaste, Costa Rica. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations. **Faculty of Science and Technology**, 1994.
- GETELINA, M. A., (2022). Influência Da Fragmentação De Habitats No Fluxo Gênico E Estrutura Cromossômica De Espécies De Anuros Do Bioma Mata Atlântica No Sul Do Brasil. Universidade Federal de Santa Maria. **Tese de doutorado**. 126 p.

- GIASSON, L. O. M., KUNZ, T. S., & GHIZONI-JR, I. R., (2011). Amphibia, Anura, Bufonidae, *Melanophryniscus spectabilis* Caramaschi and Cruz, 2002: Distribution extension and geographic distribution map. **Check List**, **7(5)**, 641-644.
- GONSALES, E. M. L., (2008). Diversidade e conservação de anfíbios anuros no estado de Santa Catarina, sul do Brasil (**Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo**), 202 p.
- GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, J. E., (2006). Anfíbios colectados por la Comisión Científica del Pacífico (entre 1862 y 1865) conservados en el Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid. **Graellsia**, **62(1)**: 111-158 (2006)
- GONZÁLEZ-DEL-PLIEGO, P., FRECKLETON, R. P., EDWARDS, D. P., KOO, M. S., SCHEFFERS, B. R., PYRON, R. A., & JETZ, W. 2019. Phylogenetic and trait-based prediction of extinction risk for data-deficient amphibians. **Current Biology**, **29(9)**, 1557-1563.
- GUERRA, V., JARDIM, L., LLUSIA, D., MÁRQUEZ, R., & BASTOS, R. P., (2020). Knowledge status and trends in description of amphibian species in Brazil. **Ecological Indicators**, **118**, 106754.
- GUERRA, V., LLUSIA, D., GAMBALE, P. G., MORAIS, A. R. D., MARQUEZ, R., & BASTOS, R. P., (2018). The advertisement calls of Brazilian anurans: Historical review, current knowledge and future directions. **PLoS One**, **13(1)**, e0191691.
- HADDAD, C. F., & POMBAL JR, J. P., (1998). Redescription of *Physalaemus spiniger* (Anura: Leptodactylidae) and description of two new reproductive modes. **Journal of Herpetology**, 557-565.
- HADDAD, C. F., & SAZIMA, I., (2004). A new species of *Physalaemus* (Amphibia; Leptodactylidae) from the Atlantic Forest in southeastern Brazil. **Zootaxa**, **479(1)**, 1-12.
- HADDAD, C.F.B., L.F. TOLEDO, C.P.A. PRADO, D. LOEBMANN, J.L. GASPARINI & I. SAZIMA., (2013). **Guia dos anfíbios da Mata Atlântica – diversidade e biologia**. São Paulo: Anolis Books, 542 pp.
- HASENACK, H., WEBER, E., BOLDRINI, I.I., TREVISAN, R. (2010). Mapa de sistemas ecológicos da ecorregião das Savanas Uruguaias em escala 1:500.000 ou superior e relatório técnico descrevendo insumos utilizados e metodologia de elaboração do mapa de sistemas

ecológicos projeto IB/CECOL/TNC. **Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Centro de Ecologia.**

- HEIERMANN, D., FREIRE, M. D., & COLOMBO, P. (2018). Nova, endêmica e ameaçada: qual o risco de extinção do sapinho-de-barriga-vermelha, *Melanophryniscus* sp. 2 aff. *pachyrhynus*?. Anfoco 2018. Parque Zoológico de São Paulo. Banner
- HEPP, F. & POMBAL, J.P., (2020). Review of bioacoustical traits in the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae). **Zootaxa**, **4725**, 1– 106.
- HEYER, W. R., (1983). Variation and systematics of frogs of the genus *Cycloramphus* (Amphibia, Leptodactylidae). **Arq. Zool.**, **30**: 235- 339.
- HEYER, W. R., RAND, A. S., DA CRUZ, C. A. G., PEIXOTO, O. L., & NELSON, C. E. (1990). frogs of Boracéia. **Arquivos de zoologia**, 31(4), 231-410.
- HEYER, W.R.; DONNELLY, M.A.; MCDIARMID, R.W.; HAYEK, L.C. E FOSTER, M.S., (1994). **Measuring and monitoring biological diversity. Standard methods for Amphibians.** Smithsonian Institution Press, Washington.
- HORTAL, J.; DE BELLO, F.; DINIZ-FILHO, J.A.F.; LEWINSOHN, T.M.; LOBO, J.M. & LADLE, R.J., (2015). Seven shortfalls that beset large-scale knowledge of biodiversity. **Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics**, **46**, 523-549.
- HOWARD, S. D., & BICKFORD, D. P., (2014). Amphibians over the edge: silent extinction risk of Data Deficient species. **Diversity and Distributions**, **20(7)**, 837-846.
- HUGHES, J.B.; DAILY, G.C. & EHRLICH, P.R., (1997). Population diversity: its extent and extinction. **Science**, **278**, p. 689-692.
- ICMBIO, (2023). **Sistema de Avaliação do Risco de Extinção da Biodiversidade – SALVE.** Acessível na página: salve.icmbio.gov.br/salve/.
- IOP, S., CALDART, V. M., DOS SANTOS, T. G., & CECHIN, S. Z., (2011). Anurans of Turvo State Park: testing the validity of Seasonal Forest as a new biome in Brazil. **Journal of Natural History**, **45(39-40)**, 2443-2461.
- IUCN, (2023). **The IUCN Red List of Threatened Species.** Version 2022-2.

- JANSEN, M., BLOCH, R., SCHULZE, A., & PFENNINGER, M., 2011. Integrative inventory of Bolivia's lowland anurans reveals hidden diversity. **Zoologica scripta**, 40(6), 567-583.
- JANZEN, D. H., (1998). Management of Habitat Fragments in a Tropical Dry Forest: Growth. **Annales Missouri Botany Gardens**, v. 75, p. 105-116, 1998.
- JIMENEZ DE LA ESPADA, M., (1875). Nota biográfica acerca de D. Patricio M^a Paz y Membiela. **Anales de la Sociedad Española de Historia Natural. Actas, IV**: 22-29
- KEHR, A., (1983). Nota sobre distribución de *Lisapsus limellus limellus* Cope, 1862 (Pseudidae) e *Hyla berthae* Barrio, 1962 (Hylidae) en Brasil (Amphibia, Anura). – **Neotropica 29 (81)**: 43-44.
- KLAPPENBACH, M. A. AND J. A. LANGONE., (1992). Lista sistemática y sinonímica de los anfibios del Uruguay con comentarios y notas sobre su distribución. **Anales del Museo Nacional de Historia Natural (2a Serie) 8**: 163-222.
- KLAPPENBACH, M.A., (1961). Notas herpetológicas II. Hallazgo de *Trachycephalus siemersi* (MERTENS) y *Phyllomedusa iheringi* BOULENGER (Amphibia, Salientia) en Uruguay. **Comunicaciones Zoológicas del Museo de Historia Natural de Montevideo, 5(86)**:1-8, láms. 1-3.
- KOLENC, F., BORTEIRO, C., BALDO, D., FERRARO, D. P., & PRIGIONI, C., (2009). The tadpoles and advertisement calls of *Pleurodema bibroni* Tschudi and *Pleurodema kriegi* (Müller), with notes on their geographic distribution and conservation status (Amphibia, Anura, Leiuperidae). **Zootaxa, (1969)**, 1-35.
- KWET, A., (2008). New species of *Hypsiboas* (Anura: Hylidae) in the pulchellus group from southern Brazil. **Salamandra, 44(1)**, 1-14.
- KWET, A., & DI-BERNARDO, M., (1998). *Elachistocleis erythrogaster*, a new microhylid species from Rio Grande do Sul, Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment, 33(1)**, 7-18.
- KWET, A., & MIRANDA, T., (2001). *Hyla prasina*. First record. **Herpetol. Rev, 32**, 271-271.
- KWET, A.; LINGNAU, R. & DI-BERNARDO, M., (2010). Pró-Mata: **Anfíbios da Serra Gaúcha, sul do Brasil- Amphibien der Serra Gaúcha, Südbasilien- Amphibians of the Serra Gaúcha, South Brazil**. Brasilien-Zentrum, University of Tübingen, Germany. 148pp.

- LANDGRAF, G. O., (2013). **Efeitos da fragmentação sobre espécies arbóreas em remanescentes de floresta estacional semidecidual** / Guilherme Okuda Landgraf. -- Maringá, 2013.
- LANGONE, J.A., (1994). Ranas y sapos del Uruguay (reconocimiento y aspectos biológicos). **Serie Divulgación. Museo Damaso Antonio Larrañaga, Montevideo. vol.5**, p. 1-123.
- LANGONE, J.A., R. MANEYRO AND D. ARRIETA., (2004). **Present knowledge of the status of amphibian conservation in Uruguay**; pp. 83-87, in: J. Wilkinson (ed.). Collected DAPTF Working Group reports: ten years on. Milton Keynes: Department of Biological Sciences, The Open University
- LINGNAU, R., (2009). Distribuição temporal, atividade reprodutiva e vocalizações em uma assembleia de anfíbios anuros de uma Floresta Ombrófila Mista em Santa Catarina, sul do Brasil. **Tese de doutorado**.
- LIVE – Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (2014) **Avaliação do Estado de Conservação de Espécies da Fauna. Lista Vermelha da Fauna.** <https://secweb.procergs.com>.
- LOPES, M. M.; PODGORNY, I. (2014). Entre mares e continentes: aspectos da trajetória científica de Hermann von Ihering, 1850-1930. **História, Ciências, Saúde – Manguinhos**, Rio de Janeiro, v.21, n.3, jul.-set. 2014, p.809-826.
- LOPES, P. N., COLOMBO, P.; ZANK, C., VERRASTRO L. V. & FREIRE, M. D. (2019). **Anfíbios da Bacia Hidrográfica do Rio Tramandaí, Rio Grande do Sul, Brasil. Congresso Brasileiro de Herpetologia, Campinas, 2019. Banner.**
- LYNCH, J. D. (1982). Relationships of the frogs of the genus *Ceratophrys* (Leptodactylidae) and their bearing on hypotheses of Pleistocene Forest refugia in South America and punctuated equilibria. **Systematic Biology**, **31(2)**, 166-179.
- LUTZ, B. (1973). **Brazilian species of Hyla**. Austin & London, University of Texas Press.
- MACE, G.M., (2004). The role of taxonomy in species conservation. **Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences**, v. **359**, n. March, p. 711-719.

- MALABARBA, L. R. (1989). Histórico sistemático e lista comentada das espécies de peixes de água doce do sistema da Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil. **Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS**, Série Zoologia, 2(8), 107-179.
- MALAGOLI, L. R., (2018). **Anfíbios da Serra do Mar: diversidade e biogeografia**. Tese, Unesp Rio Claro, São Paulo. 206 p.
- MALLERET, M. M., FREIRE, M. D., LEMES, P., BRUM, F. T., CAMARGO, A., & VERRASTRO, L., (2022). Phylogeography and species delimitation of the Neotropical frog complex (Hylidae: *Scinax granulatus*). **Zoologica Scripta**, 51(3), 330-347.
- MARGULES, C.R. & PRESSEY, R.L., (2000). Systematic conservation planning. **Nature**, v. 405, n. 6783, p. 243-253.
- MARIOTTO, L. R., MÂNGIA S., SANTANA D. J., (2022). Anuran Natural History from Serra Dona Francisca, an Atlantic Forest Remnant in Southern Brazil. **Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay**, 2022Vol. 31 (2): e31.2.4
- MARIOTTO L.R., (2014). **Anfíbios de um gradiente altitudinal em Mata Atlântica**. Dissertation, Curitiba, Universidade Federal do Paraná, 174 p.
- MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE (MMA, 2007). **Áreas prioritárias para conservação, uso sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade brasileira: atualização**. Portaria MMA nº 9, de 23 de janeiro de 2007. MMA, Brasília.
- MORELLATO, L. P. C., & HADDAD, C. F., (2000). Introduction: The Brazilian Atlantic Forest. **Biotropica**, 32(4b), 786-792.
- MOSER, C. F., FARINA, R. K., BORGES-MARTINS, M., MACHADO, I. F., COLOMBO, P., & TOZETTI, A. M. (2021). Amphibians of the Sinos River Basin, southern Brazil. **Neotropical Biology and Conservation**, 16, 435.
- MURPHY. P. G. & LUGO, A. E., (1986). Ecology of tropical dry forest. **Annual review of ecologic and sistematics**, v. 17, n.1, p. 67-88. 1986.
- NAPOLI, M. F. (2000) **Taxonomia, Variação Morfológica e Distribuição Geográfica das espécies do grupo de Hyla circumdata (Cope, 1870) (Amphibia, Anura, Hylidae)**. Tese (Doutorado em Zoologia) – Museu nacional, UFRJ, Rio de Janeiro. Xii + 208 p. 2000.

- NARVAES, P., BERTOLUCI, J., & RODRIGUES, M. T., (2009). Composição, uso de hábitat e estações reprodutivas das espécies de anuros da floresta de restinga da Estação Ecológica Juréia-Itatins, sudeste do Brasil. **Biota Neotropica**, **9**, 117-123.
- NORI, J., & LOYOLA, R., (2015). On the worrying fate of data deficient amphibians. **PLoS One**, **10(5)**, e0125055
- NOVAES-E-FAGUNDES, G., LYRA, M. L., LOREDAM, V. S., CARVALHO, T. R., HADDAD, C. F., RODRIGUES, M. T., ... & PELOSO, P. (2023). A tale of two bellies: systematics of the oval frogs (Anura: Microhylidae: *Elachistocleis* Parker, 1927). **Zoological Journal of the Linnean Society**. **197(3)**, 545-568, 2022.
- NUNES, I., KWET, A., & POMBAL, J. P. JR. (2012). Taxonomic revision of the *Scinax alter* species complex (Anura: Hylidae). *Copeia*, **3**, 554–569.
- NÚÑEZ, D., MANEYRO, R., LANGONE, J. A., & DE SÁ, R. O., (2004). Distribución geográfica de la fauna de anfibios del Uruguay. **Smithsonian Herpetological Information Service**, **134**, 1
- OLSON, D.M.; DINERSTEIN, E.; WIKRAMANAYAKE, E.D.; BURGESS, N.D.; POWELL, G.V.N., UNDERWOOD E.C.; D'AMICO, J.A.; ITOUA, I.; STRAND, H.E.; MORRISON, J.C.; LOUCKS, C.J.; ALLNUTT, T.F.; RICKETTS, T.H.; KURA, Y.; LAMOEU, J.F.; WETTENGEL, W.W.; HEDAO, P. & KASSEM, K.R., (2001). Terrestrial ecoregions of the world: A new map of life on earth. **BioScience**. **51**, 933-938.
- OVERBECK, G.E.; MÜLLER, S.C.; FIDELIS, A.; PFADENHAUER, J.; PILLAR, V.D.; BLANCO, C.; BOLDRINI, I.I; BOTH, R. & FORNECK, E.D. (2007). Brazil's neglected biome: the Southern Campos. **Perspectives in Plant Ecology and Systematics**, **9**: 101-116.
- PADIAL, J.M., (2010). The integrative future of taxonomy. **Frontiers in zoology**, v. **7**, n. 1, p. 16.
- PADIAL, J. M., & DE LA RIVA, I. (2006). Taxonomic inflation and the stability of species lists: the perils of ostrich's behavior. **Systematic Biology**, **55(5)**, 859-867.
- PENNINGTON, R. T. PRADO, D. E. & PENDRY, C. A., (2000). Neotropical Seasonally Dry Forests and Quaternary Vegetation Changes. **Jornal of Biogeography**, pg. **261-273**. 2000.

- PEZZUTI, T. L., LEITE, F. S. F., ROSSA-FERES, D. D. C., & GARCIA, P. C. A., (2021). The tadpoles of the Iron Quadrangle, Southeastern Brazil: a baseline for larval knowledge and anuran conservation in a diverse and threatened region. **South American Journal of Herpetology**, **22(sp1)**, 1-107.
- PIE, M. R., STRÖHER, P. R., BELMONTE-LOPES, R., BORNSCHEIN, M. R., RIBEIRO, L. F., FAIRCLOTH, B. C., & MCCORMACK, J. E., (2017). Phylogenetic relationships of diurnal, phytotelm-breeding *Melanophryniscus* (Anura: Bufonidae) based on mitogenomic data. **Gene**, **628**, 194-199.
- PILLAR VD & VÉLEZ E., (2010). Extinção dos Campos Sulinos em Unidades de Conservação: um fenômeno natural ou um problema ético? **Natureza & Conservação**, **8**:84-86. <http://dx.doi.org/10.4322/natcon.00801014>
- PILLAR, V.P.; MÜLLER, S.C.; CASTILHOS, Z.M.S.; JACQUES, A.V.A. (eds.) (2009). **Campos Sulinos - Conservação e uso sustentável da biodiversidade**. Ministério do Meio Ambiente, Brasília.
- PILLAR, VALÉRIO DE PATTA, AND OMARA LANGE, EDS. (2015). **Os campos do sul**. Porto Alegre/RS: Rede Campos Sulinos-UFRGS, 2015.
- PINHEIRO, P. D. P., (2017). **Contribuições ao estudo de taxonomia e sistemática do gênero *Boana* Gray, 1825** (Anura: Hylidae). Tese de doutorado.
- PIRANI, R. M., PELOSO, P. L.V., PRADO, J. R., POLO, E. M., KNOWLES, L., RON, S. R., RODRIGUES, M. T., STURARO, M. J., WERNECK, F. P. (2020). Diversification history of clown tree frogs in Neotropical rainforests (Anura, Hylidae, *Dendropsophus leucophyllatus* group). **Molecular Phylogenetics and Evolution** **150** (2020) 106877
- PORTO, T.J., CARNAVAL, A.C., & DA ROCHA, P.L.B. (2013). Evaluating forest refugial models using species distribution models, model filling and inclusion: a case study with 14 Brazilian species. *Diversity and Distributions* **19**: 330–340.
- PRAMUK, J. B., (2006). Phylogeny of south American Bufo (Anura: Bufonidae) inferred from combined evidence. **Zoological journal of the Linnean society**, **146(3)**, 407-452.
- PRIMACK, R.B. & RODRIGUES, E. (2001). **Biologia da Conservação**. Londrina. *Planta* 328p.

PROJETO MAPBIOMAS – **Coleção 2022 da série Anual de Mapas de Cobertura e Uso do Solo do Brasil**, acessado em outubro de 2022 através do link: <http://brasil.mapbiomas.org>

RAMBO, B., (1950). **A fisonomia do Rio Grande do Sul**. Faculdade de Filosofia, Universidade do Rio Grande do Sul.

RIBEIRO, M. C., J. P. METZGER, A. C. MARTENSEN, F. J. PONZONI & M. M. HIROTA, (2009). The Brazilian Atlantic Forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation** **142**: 1141–1153.

RIO GRANDE DO SUL. (2014). Decreto nº 51.797 de 8 de setembro de 2014. Declara as espécies da fauna silvestre ameaçados de extinção do Estado do Rio Grande do Sul. **Diário Oficial do estado do Rio Grande do Sul** **173**.

ROSSA-FERES, D. D. C., GAREY, M. V., CARAMASCHI, U., NAPOLI, M. F., NOMURA, F., BISPO, A. A., ... & CONTE, C. E., (2017). Anfíbios da Mata Atlântica: lista de espécies, histórico dos estudos, biologia e conservação. **Revisões em Zoologia: Mata Atlântica**, **1**, 237-314.

ROSSET, S. D., FADEL, R. M., DA SILVA GUIMARÃES, C., CARVALHO, P. S., CERON, K., PEDROZO, M., ... & MÂNGIA, S. (2021). A New Burrowing Frog of the *Odontophrynus americanus* Species Group (Anura, Odontophrynidae) from Subtropical Regions of Argentina, Brazil, and Paraguay. **Ichthyology & Herpetology**, **109**(1), 228-244.

SABBAG A.F., LYRA M.L., ZAMUDIO K.R., HADDAD C.F., FEIO R.N., LEITE F.S., GASPARINI J.L., BRASILEIRO C.A., (2018). Molecular phylogeny of Neotropical rock frogs reveals a long history of vicariant diversification in the Atlantic Forest. **Molecular Phylogenetics and Evolution** **122**: 142–156.

SAGER, K., (2020). **Diversification History in the *Proceratophrys bigibbosa* group (Anura, Odontophrynidae)**. Tese, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo. 89 p.

SANTOS, K.; KINOSHITA, L. & REZENDE, A., (2009). Species composition of climbers in seasonal semideciduous forest fragments of Southeastern Brazil. **Biota Neotropica** **9**:175-188.

SEGALLA, M. V., BERNECK, B., CANEDO, C., CARAMASCHI, U., CRUZ, C. A. G., GARCIA, P. C., ... & LANGONE, J. A., (2021). List of Brazilian amphibians. **Herpetologia Brasileira**, **10**(1), 121-216.

- SEMA, (2023). Secretaria Estadual do Meio Ambiente. **Unidades de Conservação**.
<https://www.sema.rs.gov.br>
- SILVA, S. M., (1999). Diagnósticos das restingas do Brasil. In: **Workshop de avaliação e ações prioritárias para conservação da biodiversidade da zona costeira e marinha, 1999**, Porto Seguro.
- SILVANO, D., E. LAVILLA, P. GARCIA AND J. LANGONE., (2004). *Pleurodema bibroni*, in: IUCN 2012. **IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2012.2. Accessible at www.iucnredlist.org. Captured on 26 October 2012.
- SLUYS, M.V., CRUZ, C.A.G., & ARZABE. C. (2010). *Dendropsophus elegans*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010.
- STUART, S.N., HOFFMANN, M., CHANSON, J.S., **Cox**, N.A., BERRIDGE, R.J., RAMANI, P., AND YOUNG, B.E. (eds.) (2008). **Threatened Amphibians of the World**. Lynx Edicions, Barcelona, Spain; IUCN, Gland, Switzerland; and Conservation International, Arlington, Virginia, USA
- TABARELLI, M., & GASCON, C., (2005). Lessons from fragmentation research: improving management and policy guidelines for biodiversity conservation. **Conservation Biology**, **19(3)**, 734-739.
- TAUCCE, P. P., CANEDO, C., PARREIRAS, J. S., DRUMMOND, L. O., NOGUEIRA-COSTA, P., & HADDAD, C. F., (2018). Molecular phylogeny of *Ischnocnema* (Anura: Brachycephalidae) with the redefinition of its series and the description of two new species. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, **128**, 123-146.
- TONINI, J.F. R., COSTA, L.P., & CARNAVAL, A.C., (2013). Phylogeographic structure is strong in the Atlantic Forest? predictive power of correlative paleodistribution models, not always. **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**. Pg 1-8, May 2013
- TREIN, F., ULANDOWSKI, L., LIMA, L., & MORATO, S., (2014). *Pleurodema bibroni* TSCHUDI, 1838 (Anura: Leiuperidae): Distribution extension and first record for the state of Paraná, Brazil. **Check List**, **10(2)**, 417-418.

- VAIRA, M., AKMENTINS, M., ATTADEMO, M., BALDO, D., BARRASSO, D., BARRIONUEVO, S., ... & ZARACHO, V., (2012). Categorización del estado de conservación de los anfibios de la República Argentina. **Cuadernos de herpetología**, **26**, 131-159.
- VAN SLUYS, M., ROCHA, C.F.D., HATANO, F.H., BOQUIMPANIFREITAS, L. & MARRA, R.V., (2004). Anfíbios da restinga de Jurubatiba: composição e história natural. In: **Pesquisas de longa duração na restinga de Jurubatiba: ecologia, história natural e conservação** (C.F.D. Rocha, F.A. Esteves & F.R. Scarano, eds). RiMa, São Carlos, p. 165-178.;
- VASCONCELOS, T. S., DA SILVA, F. R., DOS SANTOS, T. G., PRADO, V. H., & PROVETE, D. B., (2019). **Biogeographic patterns of South American anurans** (Vol. 2019, p. 149). Cham: Springer International Publishing.
- VERDADE, V. K., VALDUJO, P. H., CARNAVAL, A. C., SCHIESARI, L., TOLEDO, L. F., MOTT, T., ... & SILVANO, D. L. (2012). A leap further: the Brazilian amphibian conservation action plan. **Alytes**, **29(1-4)**, 28-43.
- WEBER, L. N., GONZAGA, L. P., & CARVALHO-E-SILVA, S. P., (2005). A new species of *Physalaemus* Fitzinger, 1826 from the lowland Atlantic Forest of Rio de Janeiro State, Brazil (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). **Arquivos do Museu Nacional**, **63(4)**, 677-684.
- WERNECK, M.S; FRANCESCHINELLI, E.V; TAMEIRÃO-NETO, E., (2000). Mudanças na florística e estrutura de uma floresta decídua durante um período de quatro anos (1994-1998), na região do triângulo mineiro, MG. **Revista Brasileira de Botânica**, **v.23**, n. 4, p. 401-413, 2000.
- WIDHOLZER, R. L. & PRIETO-TORRES, D. A., (2022). Novel data on the distribution patterns and ecological differentiation of four species of treefrogs (Hylidae: *Boana*) in southeastern **South America North-Western Journal of Zoology** **18 (2)**: 168-178.
- WILLIG, M. R., KAUFMAN, D. M., & STEVENS, R. D. (2003). Latitudinal gradients of biodiversity: pattern, process, scale, and synthesis. *Annual review of ecology, evolution, and systematics*, **34(1)**, 273-309.
- WILSON, E. O., & FRANCES, M. P., (1997). **Biodiversidade**. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 2.

- XAVIER, A. L., GUEDES, T. B., & NAPOLI, M. F., (2015). Biogeography of anurans from the poorly known and threatened coastal sandplains of eastern Brazil. **PloS One**, *10*(6), e0128268.
- ZANK C, BECKER F.G., ABADIE M, BALDO D, MANEYRO R, BORGES-MARTINS M., (2014). Climate change and the distribution of neotropical red-bellied toads (*Melanophryniscus*, Anura, Amphibia): How to prioritize species and populations? **PloS One** *9*(4): e94625. [https:// doi.org/10.1371/journal.pone.0094625](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094625)
- ZANK, C., (2012). **Anfíbios anuros da ecorregião savana uruguaia: composição, distribuição e conservação**. Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 168 p.
- ZANK, C., P. COLOMBO, G. B. ADAMS, D. F. N. B. ROCHA E M. BORGES-MARTINS., (2013). New country record and geographic distribution map for the San Martin red-bellied toad *Melanophryniscus sanmartini* Klappenbach, 1968 (Amphibia, Bufonidae). **Herpetology Notes**, *6*: 555-557.

ANEXOS

Anexo 1. Espécies de anfíbios do Rio Grande do Sul de acordo com a distribuição no bioma Pampa e Mata Atlântica, Fitofisionomias vegetais da Floresta Atlântica, ocorrência em estados brasileiros, padrão de distribuição e status de conservação a nível regional, nacional e global. Detalhes de acrônimos das ecorregiões, padrões de distribuição e status de conservação veja Material e Métodos. Espécies em sobescrito representam novos registros de ocorrência e espécies em negrito são espécies novas, ainda não descritas para o Rio Grande do Sul; * espécie endêmica do bioma; ** espécie exótica; ¹ espécies com distribuição no Uruguai e ² na Argentina.

Família/espécies	Bioma	Fitofisionomias - Floresta Atlântica	Distribuição	Padrão de distribuição	Status IUCN	Status BR	Status RS
HYLIDAE							
<i>Aplastodiscus perviridis</i>	Pam/Matl	FAI, FAA, FAT	GO, MG, SP, PR, SC, RS	Ampla ²	LC	LC	LC
<i>Dendropsophus elegans</i>	Matl*	FAI, FAA, FAT	RS, AL, BA, ES, MG, MS, B, PE, PR, RJ, SE, SC, SP	Ampla	LC	LC	NA
<i>D. microps</i>	Matl*	RES, FAI, FAA, FAT	BA, ES, MG, PR, RJ, RS, SC, SP	Ampla	LC	LC	LC
<i>D. nanus</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA	AL, BA, CE, GO, MS, PE, PR, RS, SC, SE, SP	Ampla ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>D. minutus</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	AL, BA, CE, ES, GO, MG, MS, PB, PE, PI, PR, RJ, RN, RS, SC, SE, SP	Ampla ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>D. sanborni</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	MG, PR, RS, SC, SP	Ampla ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>D. weneri</i>	Pam/Matl	RES, FAT	PR, RS, SC, SP	Região sul-sudeste	LC	LC	LC
<i>D. nahdereri</i>	Matl*	FAA, FAT	PR, RS, SC	Região Sul	LC	LC	DD
<i>Boana albopunctata</i>	Pam/Matl	FAI, FAA, FAT	BA, ES, GO, MG, MS, PR, RJ, RS, SC, SP	Região sul-sudeste ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>B. bischoffi</i>	Matl*	FAA, FAT	PR, RS, SC, SP	Ampla	LC	LC	LC
<i>B. caingua</i>	Pam/Matl	FAI, FAA	PR, RS, SC, SP, MS	Região sul-sudeste ²	LC	LC	LC

<i>B. curupi</i>	Matl*	FAI, FAA	PR, RS, SC	Região Sul e Viz ²	LC	LC	EN
<i>B. faber</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	AL, BA, ES, MG, PB, PE, PR, RJ, RS, SC, SE, SP	Ampla ²	LC	LC	LC
<i>Boana guentheri</i>	Pam/Matl	RES, FAT, FAA	RS, SC	Região Sul	LC	LC	LC
<i>B. marginata</i>	Matl*	FAI, FAT, FAA	RS, SC	Região Sul	LC	LC	LC
<i>B. pulchella</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA	RS, SC	Região Sul e Viz ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>B. leptolineata</i>	Matl*	FAI, FAA	PR, RS, SC	Região Sul	LC	LC	LC
<i>B. joaquina</i>	Matl*	FAI, FAA, FAT	PR, RS, SC	Região Sul	LC	LC	DD
<i>B. prasina</i>	Matl*	FAI, FAA, FAT	MG, PR, RJ, RS, SC, SP	Região sul-sudeste	LC	LC	DD
<i>B. stelae</i>	Matl*	FAI, FAA	RS	Região Sul e Viz ²	LC	DD	DD
<i>B. semiguttata</i>	Matl*	FAA	PR, SC, RS	Região Sul	LC	NA	NA
<i>Pseudis cardosoi</i>	Matl*	FAI, FAA	PR, RS, SC	Região Sul	LC	LC	LC
<i>P. minuta</i>	Pam/Matl	RES, FAT, FAI	RS, SC	Região Sul e Viz ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>Lysapsus limellum</i>	Pam	-	MS, PR, RS	Ampla ^{1,2}	LC	LC	NA
<i>Scinax berthae</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAT, FAA	MG, PR, RS, SC, SP	Ampla ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>S. aromothyella</i>	Pam/Matl	FAI, FAA, FAT	PR, RS, SC	Região Sul e Viz ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>S. catharinae</i>	Matl*	FAI, FAA, FAT	PR, RS, SC	Região Sul	LC	LC	LC
<i>S. fuscovarius</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	AL, BA, PE, GO, MS, MG, ES, RJ, SP, PR, SC RS	Ampla ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>S. granulatus</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	PR, RS, SC	Região Sul e Viz ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>Scinax sp. nov.</i>	Matl*	RES, FAT	RS, SC	Região Sul	LC	LC	NA
<i>S. imbegue</i>	Matl*	FAT	RS, PR, SC	Região Sul	LC	LC	NA
<i>S. nasicus</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	RS, MS	Ampla ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>S. perereca</i>	Matl*	RES, FAI, FAA, FAT	PR, RS, SC, SP	Região sul-sudeste ²	LC	LC	LC
<i>S. rizibilis</i>	Matl*	RES ¹ , FAI, FAA, FAT	PR, RS, SC, SP	Região sul-sudeste	LC	LC	CR
<i>S. squalirostris</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	MG, PR, RS, SC	Ampla ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>S. tymbamirim</i>	Pam/Matl	RES, FAA, FAT	PR, RS, SC	Região sul-sudeste	LC	LC	LC
<i>S. fontanarossai</i>	Pam*	-	RS	RS e Viz ¹	LC	NA	NA

<i>S. uruguayus</i>	Pam/Matl	FAI, FAA	RS	Região Sul e Viz ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>S. pinima</i>	Matl	FAA	MG, PR, SC, RS	Região sul-sudeste	DD	VU	NA
<i>Trachycephalus dibernardoii</i>	Matl*	FAI, FAA	PR, RS, SC	Região Sul e Viz ²	LC	LC	DD
<i>T. mesoapphaeus</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	AL, BA, ES, MG, PE, PR, RJ, RS, SC, SP	Ampla	LC	LC	LC
<i>T. typhoni</i>	Matl	FAI	CE, GO, MS, PE, PR, RS, SP	Ampla ²	LC	LC	LC
<i>Sphaenorhynchus surdus</i>	Matl*	FAA	PR, RS, SC	Região Sul	LC	LC	LC
<i>S. caramaschii</i>	Matl*	RES, FAA, FAT	PR, RS, SC, SP	Região sul-sudeste	LC	LC	EN
<i>Bokermannohyla hylax</i>	Matl*	RES, FAT	SP, PR, SC, RS	Região sul-sudeste	LC	LC	NA
<i>Itapotihylla langsdorffii</i>	Matl*	RES, FAI, FAA, FAT	BA, ES, MG, PR, RJ, RS, SE, SC, SP	Ampla ²	LC	LC	CR
PHYLLOMEDUSIDAE							
<i>Phylomedusa distincta</i>	Matl*	RES, FAA, FAT	PR, RS, SC, SP	Região sul-sudeste	LC	LC	EN
<i>P. iheringii</i>	Pam*	-	RS	RS e Viz ¹	LC	LC	LC
<i>P. tetraploidea</i>	Matl*	FAI, FAA	PR, RS, SC, SP	Região sul-sudeste ²	LC	LC	EN
LEPTODACTYLIDAE							
<i>Adenomera araucaria</i>	Matl*	FAI, FAA, FAT	PR, RS, SC	Região Sul	LC	LC	LC
<i>Leptodactylus gracilis</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	RS, SC	Região Sul e Viz ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>L. macrosternum</i>	Pam/Matl	FAI	MS, RS, SP	Ampla ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>L. labyrinthicus</i>	Pam/Matl	FAI	GO, MG, MS, PR, RS, SP	Ampla ²	LC	LC	CR
<i>L. latinasus</i>	Pam/Matl	RES, FAI	RS	Região Sul e Viz ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>L. paranaru</i>	Matl*	FAT	RS, SC, PR, SP	Região sul-sudeste	NA	NA	NA
<i>L. luctator</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	BA, ES, GO, MG, MS, PR, RS, RJ, SC, SP	Ampla ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>L. mystacinus</i>	Pam/Matl	FAI, FAT, FAA	BA, GO, MG, MS, PE, PR, RJ, RS, SC, SP	Ampla ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>L. furnarius</i>	Pam/Matl	FAI	MG, PR, SP, RS	Ampla ^{1,2}	LC	LC	NT

<i>L. fuscus</i>	Pam/Matl	FAI, FAA	AL, BA, CE, ES, GO, MG, MS, PB, PE, PI, PR, RJ, RS, RN, SC, SE, SP	Ampla ²	LC	LC	LC
<i>L. plaumanni</i>	Matl*	FAI, FAA, FAT	PR, RS, SC	Região Sul e Viz ²	LC	LC	LC
<i>L. podicipinus</i>	Pam/Matl	FAI	BA, GO, MS, PR, RS, SP	Ampla ^{1,2}	LC	LC	DD
<i>Physalaemus biligonigerus</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAT, FAA	RS, SC	Região Sul e Viz ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>P. cuvieri</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	AL, BA, CE, ES, GO, MG, MS, PB, PE, PR, RJ, RS, SC, SE	Ampla ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>P. carrizorum</i>	Matl*	FAI, FAA	RS, SC	Região Sul e Viz ²	NA	NA	NA
<i>P. gracilis</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	RS, SC	Região Sul e Viz ¹	LC	LC	LC
<i>P. henselii</i>	Pam/Matl	RES, FAA, FAT	RS, SC	Região Sul e Viz ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>P. lisei</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	RS, SC	Região Sul	LC	LC	LC
<i>P. nanus</i>	Matl*	RES, FAT, FAA	PR, RS, SC	Região Sul	LC	LC	LC
<i>P. riograndensis</i>	Pam/Matl	RES, FAT	RS	Região Sul e Viz ^{1,2}	LC	LC	LC
Physalaemus sp. nov.	Pam/Matl	RES, FAT	RS, SC	Região Sul	NA	NA	NA
<i>Pleurodema aff. bibronii</i>	Matl*	FAA, FAI	RS, SC, PR	Região Sul	NT	LC	DD
<i>Pseudopaludicola falcipes</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAT, FAA	ES, MG, PE, PR, RS, SC, SP	Ampla ^{1,2}	LC	LC	LC
BRACHYCEPHALIDAE							
<i>Ischnocnema henselii</i>	Matl*	RES, FAA, FAT	PR, SC, RS	Região Sul e Viz ¹	LC	LC	LC
CRAUGASTORIDAE							
<i>Haddadus binotatus</i>	Matl*	RES, FAI, FAA, FAT	PR, SC, RS, RJ, SP, MG, ES, BA	Ampla	LC	LC	EN
BUFONIDAE							
<i>Rhinella ornata</i>	Matl*	FAI, FAA, FAT	ES, , RJ, SP, PR, RS, SC	Ampla ²	LC	LC	LC
<i>R. azarai</i>	Pam	-	RS	RS e Viz ²	NA	LC	DD
<i>R. achavali</i>	Pam/Matl	FAI, FAA	RS, SC	Região Sul e Viz ¹	LC	LC	LC
<i>R. arenarum</i>	Pam/Matl	RES, FAT	RS, SC	Ampla ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>R. dorbignyi</i>	Pam/Matl	RES, FAT	RS	Região Sul e Viz ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>R. dypticha</i>	Pam	-	ES, GO, MG, MS, PR, SC, SP	Ampla ^{1,2}	DD	LC	LC

<i>R. henseli</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	PR, SC, RS	Região Sul ¹	LC	LC	LC
<i>R. icterica</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	PR, SC, RS, RJ, SP, MG	Ampla ²	LC	LC	LC
<i>Dendrophryniscus krausae</i>	Matl*	FAA	RS, SC	Região Sul	DD	DD	DD
<i>Melanophryniscus admirabilis</i>	Matl*	FAA	RS	Endêmico	CR	CR	CR
<i>M. tumifrons</i>	Pam/Matl	FAA	RS, SC	Região Sul ²	LC	LC	DD
<i>M. simplex</i>	Matl*	FAA	RS, SC	Região Sul	DD	LC	LC
<i>M. devincenzii</i>	Pam/Matl	FAI, FAA	RS	Região Sul e Viz ^{1,2}	EN	LC	LC
<i>M. atroluteus</i>	Pam/Matl	FAI, FAA	RS	Região Sul e Viz ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>M. aff. pachyrhynchus</i>	Pam/Matl	FAI	RS	Endêmico	NA	NA	NA
<i>M. dorsalis</i>	Pam/Matl	RES, FAT	RS, SC	Região sul	VU	VU	EN
<i>M. cambaraensis</i>	Matl*	FAA	RS	Endêmico	DD	EN	VU
<i>M. pachyrhynchus</i>	Pam*	-	RS	RS e Viz	DD	LC	LC
<i>M. sanmartini</i>	Pam*	-	RS	RS e Viz ¹	NT	NT	NT
<i>M. montevidensis</i>	Pam*	-	RS	RS e Viz ¹	VU	VU	EN
<i>M. macrogranulosus</i>	Matl*	FAT, FAA	RS	Endêmico	VU	EN	EN
CENTRONELIDAE							
<i>Vitreorana uranoscopum</i>	Matl*	FAI, FAA, FAT	PR, SC, RS, RJ, SP, MG, ES, BA	Ampla ²	LC	LC	NT
MICROHYLIDAE							
<i>Elachistocleis bicolor</i>	Pam/Matl	RES, FAI, FAA, FAT	MS, PR, RS, SC, SP	Região Sul e Viz ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>E. erythrogaster</i>	Matl*	FAA	RS	Endêmico	NT	DD	DD
<i>Chiasmocleis leucosticta</i>	Matl*	RES, FAA, FAT	RS, SC, PR, SP	Região sul-sudeste	LC	LC	DD
HEMIPHRACTIDAE							
<i>Fritziana mitus</i>	Matl*	FAT, FAA	RS, SC, PR, SP	Região sul-sudeste	NA	NA	NA
HYLODIDAE							
<i>Hylodes meridionalis</i>	Matl*	FAI, FAA, FAT	RS, SC	Região sul	LC	LC	NT
<i>Crossodactylus schimidti</i>	Matl*	FAI, FAA	PR, RS, SC	Região Sul e Viz ²	NT	LC	EN
ODONTOPHRYNIDAE							

<i>Odontophrynus reigei</i>	Pam/Matl	FAI, FAA	MS, SP, PR, SC, RS	Ampla ²	NA	NA	NA
<i>O. asper</i>	Pam/Matl	FAI, FAA, FAT	GO, MG, MS, PE, PR, RS, SC, SP	Ampla ^{1,2}	LC	LC	LC
<i>O. maisuma</i>	Pam/Matl	RES	RS, SC	Região sul e Viz ¹	NA	NA	NA
<i>Proceratophrys avelinoi</i>	Matl*	FAI, FAA	PR, RS, SC	Região Sul e Viz ²	LC	LC	LC
<i>P. brauni</i>	Matl*	FAA	PR, SC, RS	Região Sul	LC	LC	LC
<i>P. biggibosa</i>	Matl*	FAI, FAA	PR, SC, RS	Região Sul e Viz ²	NT	LC	LC
CERATOPHRIDAE							
<i>Ceratophrys ornata</i>	Pam*	-	RS	RS e Viz ^{1,2}	NT	CRPE _x	CR
<i>C. aurita</i>	Matl*	FAI, FAA	BA, MG, ES, RJ, SP, PR, SC, RS	Ampla	LC	DD	NA
ALSODIDAE							
<i>Limnomedusa macroglossa</i>	Pam/Matl	FAI, FAA	PR, SC, RS	Região Sul e Viz ^{1,2}	LC	LC	LC
CYCLORAMPHIDAE							
<i>Cycloramphus valae</i>	Matl*	FAA, FAT	RS, SC	Região sul	DD	DD	DD
<i>Thoropa saxatilis</i>	Matl*	FAI, FAA, FAT	RS, SC	Região sul	NT	LC	EN
RANIDAE							
<i>Lithobates catesbeianus</i> **	Pam/Matl	FAI, FAA, FAT	BA, ES, MG, PR, RS, SP	Ampla ^{1,2}			
TYPHLONECTIDAE							
<i>Chthonerpeton indistinctum</i>	Pam/Matl	RES, FAA, FAT	PR, RS	Região Sul e Viz ^{1,2}	LC	LC	LC
SIPHONOPIDAE							
<i>Luetkenotyphlus brasiliensis</i>	Matl	FAI, FAA	RS, SC, PR, SP, RJ, MG	Região sul-sudeste ²	LC	LC	DD
<i>Siphonops annulatus</i>	Pam/Matl	FAI, FAA	Todo BR (exceto MS)	Ampla ²	LC	LC	LC
<i>S. paulensis</i>	Pam/Matl	FAI, FAA	RS, SP, AM	Ampla ²	DD	LC	LC

Anexo 2. Áreas com carência de amostragem de acordo com a região fisiográfica do Rio Grande do Sul (*sensu* Fortes, 1959), Bioma (IBGE, 2019), Fitofisionomias vegetais da Floresta Atlântica, Unidades de Conservação (SEMA, 2023), e municípios associados.

Regiões	Região fisiográfica	Bioma / Fitofisionomia	Ucs	Municípios associados
Nordeste	Campos de Cima da Serra	MA/FAA	P E do Tainhas, Esec Aracuri-Esmeralda	Vacaria, Bom Jesus, São José dos Ausentes, Jaquirana e Cazuza Ferreira, Lagoa Vermelha, Antônio Prado, Muitos-Capões
Centro-norte	Encosta Superior do Nordeste/Planalto Médio	MA/FAA, FAI	não	Marau, Soledade, Guaporé, Não me Toque, Espumoso, Ibiruba
Noroeste	Alto Uruguai/ Planalto Médio	PAM, MA/ FAI, FAA	P E Papagaio-Charão	Cruz Alta, Sto Angelo, Horizontina, Ijuí, Palmeira das Missões, Três de Maio, Palmeira das Missoes,Três Passos, Carazinho, Panambi, Sta Rosa, Ametista
Oeste	Missões/Planalto Médio/Depressão Central	PAM, MA/ FAI	ReBio Ibicui-Mirim	Bossoroca,Unistalda, São Miguel das Missões, Santiago, Manoel Viana, Maçambara, Unistalda, São Francisco do Sul, Itaára
Sudoeste	Campanha/Missões/Depressão Central	PAM	APA Ibirapuitã, ReBio São Donato	Itaqui, Uruguaiana, Santa do Livramento, São Borja, Alegrete, Cacequi, São Gabriel, Acegua, Bagé
Centro-sul	Campanha	PAM	APA Ibirapuitã	Rosário do Sul, Santana do Livramento, Dom Pedrito, Aceguá, Bage, Lavras do
Centro-leste	Serra do Sudeste/Depressão Central	PAM	P E Podocarpus	Caçapava do Sul, Amaral Ferrador, Santana da Boa Vista, Canguçu, Pinheiro Machado, Encruzilhada do Sul, Dom Feliciano
Sul	Serra do Sudeste/Encosta do Sudeste	PAM	ReBio Mato Grande	Jaguarão, Pedro Osório, Arroio Grande , Herval, Pelotas

CAPÍTULO II

Proposta da exclusão da ocorrência de oito espécies de anfíbios para o estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Marcelo D. Freire ^{1*}, Iberê F. Machado ², Laura Verrastro ¹

¹ - Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós Graduação em Biologia Animal – UFRGS; * mduartefreire@gmail.com

² - Instituto Boitatá de Etnobiologia e Conservação da Fauna, Goiânia, Brasil

O estudo de Braun & Braun (1980) realizado a mais de 40 anos foi a primeira lista abrangente de espécies de anfíbios para o Rio Grande do Sul (RS), listando 65 espécies para o estado e pode ser considerado um ponto de partida em relação a diversidade de anfíbios atualmente conhecida. Desde então, diversos estudos tem adicionado e ajustado espécies a lista regional, principalmente por intermédio de novos registros de ocorrência (*e.g.*, Garcia & Vinciprova, 1998; Iop et al. 2009; Colombo et al. 2010; Zank et al. 2013), descrições de novos táxons (*e.g.*, Kwet & Di-Bernardo, 1998; Di-Bernardo et al. 2006; Cruz & Fusinato, 2008; Kwet, 2008; Rosset et al. 2021), sinonimizacões (*e.g.*, Pereira et al. 2021), revalidações de espécies (*e.g.*, Vaz et al. 2008), revisões taxonômicas de grupo de espécies (*e.g.*, *Scinax* do grupo *uruguayus*; Baldo et al. 2019), e estudos filogenéticos conjugados a abordagens taxonômicas (*e.g.*, Faivovich et al. 2021), gerando assim, avanços significativos no conhecimento da biodiversidade de anfíbios em estudos e inventários realizados em áreas do bioma Mata Atlântica e Pampa no estado do RS.

Posterior a lista de Braun & Braun (1980), alguns estudos atualizaram a riqueza de espécies para o estado, porém estas revisões adotaram critérios de inclusão de espécies

bastante distintos (Kwet, 2001 – 97 espécies; Garcia & Vinciprova, 2003 – aprox. 100; Machado & Maltchik, 2007– 84; Lema & Martins, 2011 – 103; Toledo & Batista, 2012 - 105; LIVE, 2014 – 104 espécies). Nestas atualizações, algumas espécies foram citadas sem indicação de material-testemunho e/ou procedência do registro de ocorrência (*e.g.*, *Physalaemus olfersii*; Lema & Martins, 2011; *Leptodactylus elenae*; Kwet, 2001) ou presumivelmente, baseada na extrapolação da distribuição potencial de determinada espécie (*e.g.*, *P. fernandezae*; Lema & Martins, 2011).

Na presente contribuição, avaliamos criticamente o status de ocorrência de oito espécies de anfíbios anuros listadas previamente para o estado do RS, consideradas de ocorrência duvidosa e propostas aqui para serem excluídas da lista de espécies do estado do Rio Grande do Sul, sul do Brasil.

A revisão do presente estudo foi possível devido a um amplo levantamento prévio da riqueza de espécies de anfíbios realizada pela equipe de avaliação do grupo de trabalho de Anfíbios durante o Workshop preparatório para a avaliação do Estado de Conservação de Espécies da Fauna de Anfíbios do Rio Grande do Sul (LIVE, 2014). Realizamos uma compilação atualizada das informações de registros de ocorrência destas espécies até a data de dezembro de 2022, junto ao banco de dados de coleções científicas do estado do RS (Coleção de Anfíbios do Museu de Ciência e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – MCT-PUCRS; Coleção Herpetológica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS; Coleção de Anfíbios do Museu de Ciências Naturais da Secretaria de Meio Ambiente e Infraestrutura do Rio Grande do Sul – MCN-SEMA). Ainda, consultamos a literatura científica tratando da distribuição geográfica destes táxons em publicações ou revisões de grupos taxonômicos, além de consulta no website speciesLink (<http://splink.cria.org.br>) para verificação de determinadas espécies. De forma complementar, obtivemos informações junto a curadores de coleções científicas

estrangeiras e nacionais a respeito de determinados espécimens. Adotamos as informações do trabalho de Fonte et al. (2013), referente as espécies citadas por Braun & Braun (1980) para o município de Porto Alegre (*Leptodactylus mystaceus* e *Scinax hayii*), bem como a revisão de Pimenta et al. (2014) para espécies do complexo de *Crossodactylus díspar* e Kwet (1997; 2001) para algumas espécies de anuros do RS.

Neste sentido, de forma crítica verificamos informações acerca do status de ocorrência destas espécies, citadas nas listas de Braun & Braun (1980) e Kwet (2001) e aqui indicadas como de ocorrência duvidosa para o RS, sendo elencadas as seguintes espécies: *Bokermannohyla circumdata*, *Crossodactylus díspar*, *Cycloramphus asper*, *Leptodactylus elenae*, *Leptodactylus mystaceus*, *Odontophrynus cultripes*, *Scinax hayii* e *Scinax flavoguttatus*. Atualmente, não existem evidências que suportem a validação de suas ocorrências no estado do RS, devido à dúvidas ou falta de conhecimento, considerando dois tipos de casos: a) equívocos de citações de ocorrência de espécies, oriundas de material sem procedência correta ou material-testemunho depositado em coleções científicas e b) espécies confundidas com outros táxons. Este grupo de espécies serão tratados abaixo de acordo com o conjunto de evidências obtidas na nossa pesquisa e propostas para serem retiradas da lista de espécies do estado do Rio Grande do Sul.

a) Equívocos de citações oriundas de material sem procedência correta ou ausência de material-testemunho depositado em coleções científicas

Família HYLIDAE

Bokermannohyla circumdata (Cope, 1871): *Bokermannohyla circumdata* possui registros confirmados para os estados do sudeste e sul do Brasil (Minas Gerais, São Paulo, Rio de Janeiro, Paraná e Santa Catarina) (Frost, 2023). No Rio Grande do Sul foi citada para o município de Gramado, na região da Serra Gaúcha e que posteriormente foi

seguido por Braun & Braun (1980) a partir de informações em Lutz (1973). Apesar disso, segundo Napoli (2000) que revisou o gênero, não há referência de material testemunho da espécie no RS e desde o registro de Lutz (1973) a espécie não foi mais encontrada no Estado. Recentemente, uma outra espécie bastante similar (*Bokermannohyla hylax*) tem sido encontrada no estado vizinho de Santa Catarina (Ceron et al. 2016; Ceron et al. 2017), em localidades próximas a fronteira do RS, inclusive em municípios que efetivamente fazem fronteira com o estado (Praia Grande, Santa Catarina - UFMG 19163; Moser et al. 2021). *B. circumdata*, por outro lado, apresenta o seu registro meridional conhecido para Florianópolis, Santa Catarina (I. F. Machado, comun. pessoal). Considerando a incerteza da ocorrência deste anuro no RS e por não existir atualmente referência de material testemunho em coleções do estado e coleções consultadas, essa espécie é proposta para ser excluída da lista regional do estado do Rio Grande do Sul.

Família ODONTOPHRYNIDAE

Odontophrynus cultripes Reinhardt and Lütken, 1862: A presença de *Odontophrynus cultripes* para o Estado do Rio Grande do Sul foi indicada por Cochran (1955) por meio de indivíduos coletados com procedência para o município de Passo Fundo (IB 87-8, Instituto Butantã e USNM 121327, United States National Museum), região norte do RS e identificados naquela ocasião como pertencentes a *O. cultripes*. Braun & Braun (1980) indica a presença de *O. cultripes* para o Estado seguindo Cochran (1955). Posteriormente, Caramaschi e Napoli (2012) revisaram o grupo de espécies pertencentes a *Odontophrynus cultripes* e indicaram que os espécimes referidos para Rio Grande do Sul (Passo Fundo, IB 87-8 e USNM 121327), tratava-se provavelmente de indivíduos de *Odontophrynus maisuma*, ou a localidade indicada poderia estar errada, no entanto, os espécimes não foram examinados pelos autores. Nossa pesquisa fez a verificação de dito material junto

aos curadores da coleção científica do Instituto Butantã e identificou que o indivíduo mencionado em Cochran (1955) com procedência para o município de Passo Fundo (IB 87-8) não constam nesta coleção (Grazziotin, comum. pessoal). Já o espécimen (USNM 121327) mencionado pela mesma autora, encontra-se preparado como material osteológico, não sendo possível a verificação da identidade do espécimen (S. Gotte, comum. pessoal).

Devido a distribuição conhecida para *O. cultripes* estar associada aos estados do sudeste e centro oeste do Brasil (Minas Gerais, Goiás, Distrito Federal e São Paulo), não é esperada sua presença para o Estado do Rio Grande do Sul, aonde são conhecidas três espécies atualmente para o gênero, *Odontophrynus maisuma*, *O. reigi* e *O. asper* (Rosset, 2008; Rosset et al. 2021; Rosset et al. 2022). Portanto, nossa revisão sugere que o registro de *O. cultripes* para o RS foi um erro de identificação. Estudos recentes utilizando material abrangente do gênero incluindo a região do município de Passo Fundo, RS não relacionam material de *O. cultripes* para o estado (*O. reigi*; Rosset et al. 2021; *O. asper*; Rosset et al. 2022).

Família CYCLORAMPHIDAE

Cycloramphus asper Werner, 1899: O registro de *Cycloramphus asper* para o estado do Rio Grande do Sul (município de São Borja; Braun & Braun, 1980), foi realizado a partir de localidade errada, utilizando material citado em Cochran (1955) (Santa Maria, Rio Grande do Sul – USNM 121318) e posteriormente clarificado em Heyer (1983). Este autor revisou e verificou na coleção do USNM, que a localidade indicada como procedente do estado do Rio Grande do Sul, na verdade referia-se a Rio Grande, estado de São Paulo. Adicionalmente, obteve junto a P. Braun em comunicação pessoal

informação de que nenhum outro espécimen havia sido coletado no estado do Rio Grande do Sul (Heyer, 1983; p. 260).

Família LEPTODACTYLIDAE

Leptodactylus elenae Heyer, 1978: Kwet (2001) em sua lista preliminar de espécies de anfíbios do RS, cita *Leptodactylus elenae* para o oeste do Rio Grande do Sul, porém sem referência de material testemunho, mencionando que a distribuição da espécie é “dispersa, nas planícies ocidentais”. O mesmo procedimento é realizado por Lema & Martins (2011), provavelmente repetindo Kwet (2001). *L. elenae* faz parte do complexo de *L. mystaceus* e está associada ao clado de espécies com distribuição na Floresta Atlântica e região Chaquenha (Silva et al. 2020), e apresentando distribuição ampla (Argentina, Bolívia, Paraguai, Mato Grosso and Mato Grosso do Sul). Na Argentina, ocupa ambientes em ecorregiões contíguas a região do bioma Pampa (*i.e.*, Floresta Atlântica de Interior, Campos Mesopotâmicos, Espinhal; *sensu* Olson et al. 2001) em províncias na fronteira oeste do Estado que fazem limite com o RS (Corrientes, Entre-Rios e Misiones) (Cespedez et al. 1995; Heyer & Heyer, 2002; Vaira et al 2012; Schneider et al. 2019; Silva et al. 2020). Apesar disso, alguns inventários na região oeste do pampa riograndense não encontraram a espécie (APA do Ibirapuitã, Bolzan et al. 2016; REBIO São Donato, André et al. 2019). Desta forma, apesar de *L. elenae* apresentar possibilidade de ser registrada no RS em inventários futuros em áreas do bioma Pampa, é uma espécie candidata a exclusão da lista regional.

b) Espécies confundidas com outros táxons

Família HYLODIDAE

Crossodactylus dispar Lutz, 1925: *Crossodactylus dispar* foi citado em Braun & Braun (1980) com base em quatro exemplares provenientes do município de São Borja, Rio Grande do Sul (MCN 9554-9557), que foram posteriormente re-identificados como *Leptodactylus podicipinus* (Pimenta et al. 2014).

Família HYLIDAE

Scinax hayii (Barbour, 1909): A ocorrência de *Scinax hayii* no RS é proveniente de material citado em Braun & Braun (1980), baseado em citações de Cochran (1955), e que foram posteriormente re-identificados como *S. granulatus* em Fonte et al. (2013).

Scinax flavoguttatus (Lutz and Lutz, 1939): *Scinax flavoguttatus* apresenta distribuição que abrange os estados do Rio de Janeiro, Minas Gerais e São Paulo (Frost, 2023). Seu registro para o Rio Grande do Sul (município de Cambará do Sul) foi feito por Braun (1978) e novamente em Braun & Braun (1980), no entanto se tratam de indivíduos fêmeas de *Scinax catharinae* segundo Kwet (1997, 2001).

Família LEPTODACTYLIDAE

Leptodactylus mystaceus (Spix, 1824): A citação da ocorrência de *Leptodactylus mystaceus* no RS é proveniente de exemplares citados em Braun & Braun (1980) para o município de Porto Alegre e Canela. Dois exemplares provenientes de Porto Alegre (MCN 2135, 2136) foram posteriormente re-identificados como *L. latrans* (agora *L. luctator*) em Fonte et al. (2013). O material proveniente do município de Canela citado em Braun & Braun (1980) não foi localizado na coleção do MCN na nossa pesquisa,

mesma conclusão obtida por Moser et al. (2021). Atualmente não existem exemplares tombados nas coleções herpetológicas do estado tampouco referência de material testemunho do Rio Grande do Sul em outras coleções brasileiras para esta espécie (Colombo P., comum. pessoal). *L. mystaceus* consiste em um complexo de espécies com dois clados distintos, um clado com distribuição na Floresta Atlântica e na região Chaquenha e um segundo clado Amazônico, na qual a espécie nominal está inserida com distribuição restrita ao norte do Brasil, incluindo o noroeste estado do Mato Grosso e Bolívia (Silva et al. 2020). O registro de *L. mystaceus* para o estado do Paraná (Affonso et al. 2014) pode representar a distribuição de uma nova espécie ainda não descrita (*Leptodactylus* cf. *mystaceus*) após a revisão de Silva et al. (2020). Portanto, devido a incerteza da ocorrência de *L. mystaceus* no RS, associada a carência de registros atuais e por não existir atualmente referência de material testemunho em coleções do estado e coleções consultadas, essa espécie é proposta para exclusão da lista regional do estado do Rio Grande do Sul.

Adicionalmente, nossa pesquisa também identificou outras 16 espécies que são mencionadas para o Estado, mas que a partir do conhecimento atual, são consideradas citações de ocorrência errôneas ou pendentes de confirmação para o RS, sem justificativa ou citação de material-testemunho e/ou menção de coleções consultadas: *Dendrophryniscus berthalutzae*, *Elachistocleis ovalis*, *Physalaemus fernandezae*, *P. olfersii*, *P. aff. fuscomaculatus*, *Bokermannohyla aff. circumdata* (Lema & Martins, 2011); *Dendrophryniscus berthalutzae*, *Elachistocleis ovalis*, *Pseudis platensis*, *Rhinella granulosa*, *Hyalinobatrachium eurignatum*, *Melanophryniscus spectabilis*, *Scinax acuminatus*, *S. fuscomarginatus*, *Trachycephalus imitatrix*, *Physalaemus fernandezae* e

Pseudopaludicola mystacalis (Toledo & Batista, 2012); *Adenomera nana*, *Trachycephalus imitatrix* e *Proceratophrys boiei*; Rosa-Ferez et al. 2018).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFFONSO I. P., CAFOFO E.G., DELARIVA R.L., ODA F.H., KARLING L.C., LOURENÇO-DE-MORAES R., (2014). List of anurans (Amphibia: Anura) from the rural zone of the municipality of Maringá, Paraná state, southern Brazil. **Check List** **10(4)**: 878–882.
- ANDRÉ, T. C., CECHIN, S. Z., & DOS SANTOS, T. G. (2019). Anurans in the Brazilian Pampa biome: the first checklist from Biological Reserve of São Donato and a summary on actual knowledge of conservation units. **Herpetology Notes**, **12**, 1095-1103.
- BALDO, D., ARAUJO-VIEIRA, K., CARDOZO, D., BORTEIRO, C., LEAL, F., PEREYRA, M. O., ... & FAIVOVICH, J. (2019). A review of the elusive bicolored iris Snouted Treefrogs (Anura: Hylidae: *Scinax uruguayus* group). **Plos one**, **14(9)**, e0222131.
- BOLZAN, A. M. R., SACCOL, S. A., & SANTOS, T. G. D. (2016). Composition and diversity of anurans in the largest conservation unit in Pampa biome, Brazil. **Biota Neotropica**, **16**.
- BRAUN, P. C. (1978). Ocorrência de *Hyla flavoguttata* A. Lutz & Lutz, 1939 no Estado do Rio Grande do Sul, Brasil (Anura, Hylidae). **Iheringia, Ser. Zool.**, **(51)**: 43-44.
- BRAUN, P.C. & BRAUN, C.A.S. (1980). Lista prévia dos anfíbios do Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia, Série Zoologia**, **56**, 121 -146.
- CARAMASCHI, U., & NAPOLI, M. F. (2012). Taxonomic revision of the *Odontophrynus cultripes* species group, with description of a new related species (Anura, Cycloramphidae). **Zootaxa**, **3155(3155)**, 1-20.
- CERON, K., DE BONA MARTINS, H., & ZOCHE, J. J. (2016). Anurans of a remnant forest in Urussanga, Santa Catarina, southern of Brazil. **Check List**, **12(6)**, 2014-2014.
- CERON, K., MARTINS, H DE B., & ZOCHE, J. J. (2017). Anurans of a remnant forest in Urussanga, Santa Catarina, southern of Brazil **Check List** **12**: 1-8

- CÉSPEDEZ, J.A.; AGUIRRE, R.H. Y ÁLVAREZ, B.B. (1995). Composición y distribución de la anfibiafauna de la provincia de Corrientes (Argentina). **Facena** **11**: 25-49.
- COCHRAN, D. M. (1955). Frogs of southeastern Brazil. **Bull. U.S. Natn. Mus.**, **206**: 1-423.
- COLOMBO, P., ZANK, C., BÜHLER, D., SCHOSSLER, M., BALESTRIN, R. L., SANTOS, R. R., ... & VERRASTRO, L. (2010). Anura, Hylidae, *Dendropsophus nahdereri* (Lutz and Bokermann, 1963): Distribution extension and new state record. **Check list**, **6(3)**, 429-431.
- CRUZ, C. A. G., & FUSINATTO, L. A. (2008). A new species of *Dendrophryniscus*, Jiménez de la Espada, 1871 (Amphibia, Anura, Bufonidae) from the Atlantic rain forest of Rio Grande do Sul, Brazil. **South American Journal of Herpetology**, **3(1)**, 22-26.
- DI-BERNARDO, M., MANEYRO, R., & GRILLO, H. (2006). New species of *Melanophryniscus* (Anura: Bufonidae) from Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Journal of herpetology**, **40(2)**, 261-266.
- FAIVOVICH, J., P. PINHEIRO, L. PEREYRA, D. BALDO, A. MUÑOZ, S. REICHLER, R. BRANDÃO, A. GIARETTA, C. TEREZA, J. CHAPARRO, D. BAÊTA, R. LIBARDI, J. BALDO, E. LEHR, W. WHEELER, P. GARCIA & C.F. HADDAD., (2021). Phylogenetic relationships of the *Boana pulchella* Group (Anura: Hylidae). **Molecular Phylogenetics and Evolution** **155**:1- 18.
- FONTE, L. F. M., FUSINATTO, L. A., VOLKMER, G., FREIRE, M. D., ZANK, C., COLOMBO, P. 483 (2013): Anfíbios. In: **Fauna e Flora da Reserva Biológica Lami José Lutzenberger, p. 93-135. Witt, P. B. R., Eds.**, Porto Alegre, Secretaria Municipal do Meio Ambiente (SMAM).
- FROST, D.R. (2023). Amphibian Species of the World: An Online Reference. Version 6.1. American Museum of Natural History, USA. Disponível em: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. Acesso em dezembro de 2022.
- GARCIA, P. C. D., & VINCIPROVA, G. (1998). Range extensions of some anuran species for Santa Catarina and Rio Grande do Sul States, Brazil. **Herpetological Review**, **29(2)**, 117-117.
- GONSALES, E. M. L. (2008). Diversidade e conservação de anfíbios anuros no estado de Santa Catarina, sul do Brasil (Doctoral dissertation, Universidade de São Paulo).

- HEYER, W. R. (1983). Variation and systematics of frogs of the genus *Cycloramphus* (Amphibia, Leptodactylidae). **Arq. Zool.**, **30**: 235- 339.
- HEYER, W. R., & HEYER, M. M. (2002). *Leptodactylus elenae* Heyer. **Catalogue of American Amphibians and Reptiles**.
- IOP, S.; CALDART, V. M.; ROCHA, M. C.; PAIM, P. & CECHIN, S. Z. (2009). Amphibia, Anura, Hylidae, *Hypsiboas curupi* Garcia, Faivovich, Haddad, 2007: First record for the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Check List** **5(4)**:860-862
- KWET, A. (1997). Pró-Mata, ein Forschungsprojekt im sübrasilianischen Araukarienwald und seine Laubfroschfauna. *Elaphe*, **5(4)**, 61-69.
- KWET, A., & DI-BERNARDO, M., (1998). *Elachistocleis erythrogaster*, a new microhylid species from Rio Grande do Sul, Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, **33(1)**, 7-18.
- KWET, A. (2001). Südbrasilianische Laubfrösche der Gattung Scinax mit Bemerkungen zum Geschlecht des Gattungsnamen und zum taxonomischen Status von *Hyla granulata* Peters, 1871. **Salamandra** **37**: 211-238
- KWET, A. (2008). New species of *Hypsiboas* (Anura: Hylidae) in the *pulchellus* group from southern Brazil. **Salamandra**, **44(1)**, 1-14.
- LEMA, T., & MARTINS, L. A. (2011). Anfíbios do Rio Grande do Sul: catálogo, diagnoses, distribuição, iconografia. Edipucrs.
- LIVE – Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (2014) Avaliação do Estado de Conservação de Espécies da Fauna. Lista Vermelha da Fauna. <https://secweb.procergs.com.br>.
- LUTZ, B. (1973). Brazilian species of *Hyla*. Austin & London, **University of Texas Press**.
- MACHADO, I. F., & MALTCHIK, L. (2007). Check-list da diversidade de anuros no Rio Grande do Sul (Brasil) e proposta de classificação para as formas larvais. **Neotropical Biology and Conservation**, **2(2)**, 101-116.
- MOSER, C. F., FARINA, R. K., BORGES-MARTINS, M., MACHADO, I. F., COLOMBO, P., & TOZETTI, A. M. (2021). Amphibians of the Sinos River Basin, southern Brazil. **Neotropical Biology and Conservation**, **16**, 435.

- NAPOLI, M. F. (2000). Taxonomia, Variação Morfológica e Distribuição Geográfica das espécies do grupo de *Hyla circumdata* (Cope, 1870) (Amphibia, Anura, Hylidae). **Tese (Doutorado em Zoologia) – Museu nacional, UFRJ, Rio de Janeiro**. Xii + 208 p. 2000.
- OLSON, D.M.; DINERSTEIN, E.; WIKRAMANAYAKE, E.D.; BURGESS, N.D.; POWELL, G.V.N., UNDERWOOD E.C.; D’AMICO, J.A.; ITOUA, I.; STRAND, H.E.; MORRISON, J.C.; LOUCKS, C.J.; ALLNUTT, T.F.; RICKETTS, T.H.; KURA, Y.; LAMOEUX, J.F.; WETTENGEL, W.W.; HEDAO, P. & KASSEM, K.R. (2001). Terrestrial ecoregions of the world: A new map of life on earth. **BioScience**. **51**, 933-938.
- PEREYRA, M. O., BLOTTO, B. L., BALDO, D., CHAPARRO, J. C., RON, S. R., ELIAS-COSTA, A. J., ... & FAIVOVICH, J. (2021). Evolution in the genus *Rhinella*: a total evidence phylogenetic analysis of Neotropical true toads (Anura: Bufonidae). **Bulletin of the American Museum of Natural History**, **447(1)**, 1-156.
- PIMENTA, B. V. S., CRUZ, C. A. G., & CARAMASCHI, U. (2014). Taxonomic review of the species complex of *Crossodactylus dispar* A. Lutz, 1925 (Anura, Hylodidae). **Arquivos De Zoologia - Museu De Zoologia Da Universidade De São Paulo**, **45**, 1–33.
- ROSSA-FERES, D. D. C., GAREY, M. V., CARAMASCHI, U., NAPOLI, M. F., NOMURA, F., BISPO, A. A., ... & CONTE, C. E. (2018). Anfíbios da Mata Atlântica: lista de espécies, histórico dos estudos, biologia e conservação. **Revisões em Zoologia: Mata Atlântica**, **1**, 237-314.
- ROSSET, S.D. (2008). New Species of *Odontophrynus* Reinhardt and Lütken 1862 (Anura: Neobatrachia) from Brazil and Uruguay. **Journal of Herpetology** **42(1)**: 134-144.
- ROSSET, S. D., FADEL, R. M., DA SILVA GUIMARÃES, C., CARVALHO, P. S., CERON, K., PEDROZO, M., ... & MÂNGIA, S. (2021). A New Burrowing Frog of the *Odontophrynus americanus* Species Group (Anura, Odontophrynidae) from Subtropical Regions of Argentina, Brazil, and Paraguay. **Ichthyology & Herpetology**, **109(1)**, 228-244.
- ROSSET, S. D., BALDO, D., BORTEIRO, C., KOLENC, F., CAZZANIGA, N. J., & BASSO, N. G. (2022). Calling Frogs by Their Name: Long-Lasting Misidentification of Tetraploid Frogs of the Genus *Odontophrynus* (Anura: Odontophrynidae). **Herpetological Monographs**, **36(1)**, 80-98.
- SCHNEIDER, R.G., CARDOZO, D.E., BRUSQUETTI, F., KOLENC, F., BORTEIRO, C., HADDAD, C., BASSO, N.G. & BALDO, D. (2019) A new frog of the *Leptodactylus fuscus* species group

(Anura: Leptodactylidae), endemic from the South American Gran Chaco. **Peer J**, **7**, 1–29.

SILVA, L.A., DA, MAGALHAES, F. M., THOMASSEN, H., LEITE, F. S., GARDA, A. A., BRANDAO, R. A., ... & TR, D. C. (2020). Unraveling the species diversity and relationships in the *Leptodactylus mystaceus* complex (Anura: Leptodactylidae), with the description of three new Brazilian species. **Zootaxa**, **4779**(2)

TOLEDO, L. F., & BATISTA, R. F. (2012). Integrative Study of Brazilian Anurans: Geographic Distribution, Size, Environment, Taxonomy, and Conservation. **Biotropica**, **44**(6), 785-792.

VAIRA, M., AKMENTINS, M., ATTADEMO, M., BALDO, D., BARRASSO, D., BARRIONUEVO, S., ... & ZARACHO, V. (2012). Categorización del estado de conservación de los anfibios de la República Argentina. **Cuadernos de herpetología**, **26**, 131-159.

VAZ-SILVA, W., BALESTRIN, R. L., & DI-BERNARDO, M. (2008). Rediscovery of *Melanophryniscus pachyrhynchus* (Miranda-Ribeiro, 1920)(Amphibia: Anura: Bufonidae) in southern Brazil, with addenda to species redescription. **South American Journal of herpetology**, **3**(1), 36-42.

ZANK, C., P. COLOMBO, G. B. ADAMS, D. F. N. B. ROCHA E M. BORGES-MARTINS., (2013). New country record and geographic distribution map for the San Martin red-bellied toad *Melanophryniscus sanmartini* Klappenbach, 1968 (Amphibia, Bufonidae). **Herpetology Notes**, **6**: 555-557.

CAPÍTULO III

First record of the swamp treefrog *Dendropsophus elegans* (Wied-Neuwied, 1824) (Hylidae) from the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil, with geographic distribution map

Marcelo Duarte Freire ^{1,2}, Gustavo Lara Canella ³, Luiz Fernando Ugioni ⁴, Patrick Colombo ⁵

¹ Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, Agronomia, CEP 91501-970, Porto Alegre. Rio Grande do Sul, Brazil

² Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

³ Licenciatar Consultoria Ambiental; Rua José Luiz de Freitas, 397, Centro, Torres, Rio Grande do Sul. CEP95560-000

⁴ Rua Libero João da Silva n. 1210 bairro Verdinho, CEP 88814-540 Criciúma, SC, Brazil.

⁵ Secretaria de Meio Ambiente e Infraestrutura, Museu de Ciências Naturais, Setor de Herpetologia/ Anfíbios, Rua Dr Salvador França, CEP 90690-000, Porto Alegre, RS, Brazil

Locality – Four individuals were registered in three localities in the Atlantic Forest region, southern Brazil, Rio Grande do Sul state, municipality of Dom Pedro de Alcântara (-29.4390 and -49.9167), one adult female collected in 9 January 2016 (SVL 31.72 mm; MCN 14350) encountered in rural house close to forest remnants and one young in 30 April 2017 (SVL 18.51 mm; MCN 14351) resting on vegetation and collected by Gustavo Canella; Gruta Nossa Senhora de Lourdes, municipality of Dom Pedro de Alcântara (-29.3728 and -49.8608), one adult (SVL 33.35 mm) in 23 September 2019 (ZUFMSM 13163) in close proximity of lentic water bodies collected by Arthur Abbeg; locality of Santo Anjo da Guarda, municipality of Três Cachoeiras (-29.4259 and -49.8819), one adult photographed in 24 October 2018 (unvouchered), registered in close proximity of banana cultivation near BR-101 federal road. The two records obtained are approximately 6 km apart, with the locality of Santo Anjo da Guarda, municipality of Três Cachoeiras being the southern limit of the distribution. Voucher specimens are deposited in the Museu de Ciências Naturais, Secretaria de Meio Ambiente e Infraestrutura do Rio Grande do Sul (SEMA/MCN) and herpetological collection of the Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Morphological comparisons of the specimens were verified by consulting the literature (Lutz, 1973; Haddad et al. 2013; Pirani et al. 2022).

Comments - The swamp treefrog (*sensu* Haddad et al. 2013) *Dendropsophus elegans* (Wied-Neuwied 1824) is a small arboreal species (SVL less than 40 mm) characterized by conspicuous dorsal pattern generally showing a light white-yellowish color rectangle frame under brown-reddish background color (Figure 1) (Lutz, 1973; Izecksohn & Carvalho-e-Silva, 2001; Pirani et al. 2022). That small treefrog is a common species both in forest and open habitats breeding at permanent or temporary ponds where vocalizing males are founded perched on marginal vegetation at the edges of swamps and ponds during its prolonged reproductive season (Bastos & Haddad 1995; Bastos & Haddad, 1996).

D. elegans is mostly distributed in Atlantic Forest from northeastern state of Paraíba to the southern state of Santa Catarina, including transition zones in Cerrado and Caatinga biome, from sea level up to approximately 1000 meters of elevation (Lutz, 1973; Lucas & Garcia, 2011; Haddad et al. 2013; Frost, 2023). The current conservation status of the species at a regional (Brazil) and global level indicates as “least concern” (LC), been considered an extremely common species with stable population, occurring in several protected areas along its range (Sluys et al. 2010; Brasil, 2022).

Previous studies based on distribution models addressing refuges in the Atlantic Forest (Porto et al. 2013), as well as phylogeographic studies of *D. elegans* (Tonini et al. 2013) and also the history of diversification of members of the *D. leucophyllatus* group in the Neotropical region (Pirani et al. 2020), indicated the potential occurrence of *D. elegans* in southernmost Atlantic Forest (Rio Grande do Sul state).

Furthermore, the work by Tonini et al. (2013) also mentions the occurrence of *D. elegans* in the state of Rio Grande do Sul, but the lack of reference material or citation in the literature prevented the taxonomic validation of the species. Herein we report these southernmost records of *Dendropsophus elegans* (Figure 1), based on recent herpetological surveys and revision of the available herpetological collections in Rio Grande do Sul state. Additionally, we present an updated map including all the records of these species based on the revision of the literature of published papers (Figure 2).

The southernmost record (Três Cachoeiras) is approximately 290 km from the previous record, the municipality of Timbó in northern Santa Catarina state (Lucas & Garcia, 2011). The geographic distribution map of *D. elegans* (Figure 2), indicates a strong overall distribution associated with Atlantic Forest areas (*e. g.*, Sluys et al. 2010) and a marked distribution gap between Timbó (Lucas & Garcia, 2011) and the record of Três Cachoeiras and Dom Pedro de Alcântara municipalities, suggesting lack of published studies and inventories as well representativeness in scientific collections in those areas.

According to Pirani et al. (2022), the phylogeographic history of *D. elegans* consists of three distinct clades separated into two geographically structured populations distributed at the northern and southern ranges of the Atlantic Forest, plus a contact zone. The specimens collected and checked in the present work must correspond with southern clade populations (*sensu* Pirani et al. 2022), with the phenotypic variation in the dorsal color pattern observed by us matching with those predicted for the clade, with the only

exception related to the coloration of the upper forearm, that observed specimens shows a yellowish-white spot on the elbow (Figure 1) (see also Figure 5 in Pirani et al. 2022 for details).

The Atlantic Forest remnants of Rio Grande do Sul state represent only 7.9% (Projeto MapBiomias, 2022). Unexplored areas and remote sites must be prioritized to overcome the lack of information on biodiversity data in that region, particularly on species geographic distribution data (Wallacean shortfall; Lomolino, 2004; Hortal et al. 2014). In this sense, we expect that future inventories studies in the southern limit of Atlantic Forest will still reveal new occurrences (e. g. *Aplastodiscus ehrardti*, *Proceratophrys boiei*; Ceron et al., 2017) and undescribed species of amphibians (Guerra et al. 2020).

Acknowledgements

We thank Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) or financial support to MDF; We also thank A. Abegg for geographic records from Dom Pedro de Alcântara municipality and J. Monteiro for helpful revision of specimens deposited in Célio F. B. Haddad amphibian collection.

Literature cited

BASTOS, R.P. & HADDAD, C.F.B. (1995). Vocalizações e interação acústica de *Hyla elegans* (Anura: Hylidae) durante a atividade reprodutiva. *Naturalia* **20**: 165-176.

BASTOS, R.P. & HADDAD, C.F.B. (1996). Breeding Activity of the Neotropical Treefrog *Hyla elegans* (Anura, Hylidae). *Journal of Herpetology* **30**: 355-360.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Gabinete do Ministro. Portaria MMA nº 148, de 7 de junho de 2022. Altera os Anexos da Portaria nº 443, de 17 de dezembro de 2014, da Portaria nº 444, de 17 de dezembro de 2014, e da Portaria nº 445, de 17 de dezembro de 2014, referentes à atualização da Lista Nacional de Espécies Ameaçadas de Extinção. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 8 jun. 2022. p. 74.

CERON, K., MARTINS, H DE B., & ZOCHE, J. J. (2017). Anurans of a remnant forest in Urussanga, Santa Catarina, southern of Brazil *Check List* **12**: 1-8

FROST, D.R. (2023). Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.1. Available from: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. Last access: 10 february 2023.

GUERRA, V., JARDIM, L., LLUSIA, D., MÁRQUEZ, R. & BASTOS, R.P. (2020). Knowledge status and trends in description of amphibian species in Brazil. *Ecological Indicators* **118**: 1-11.

HADDAD, C.F.B., L.F. TOLEDO, C.P.A. PRADO, D. LOEBMANN, J.L. GASPARINI & I. SAZIMA., (2013). **Guia dos anfíbios da Mata Atlântica – diversidade e biologia**. São Paulo: Anolis Books, 542 pp.

HORTAL, J., DE BELLO, F., DINIZ-FILHO, J.A.F., LEWINSOHN, T.M., LOBO, J.M. & LADLE, R.J. (2015). Seven shortfalls that beset large-scale knowledge of biodiversity. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **46**: 523–549

IZECKSOHN, E. & CARVALHO-E-SILVA, S.P. (2001). Anfíbios do Município do Rio de Janeiro. **Rio de Janeiro, UFRJ**.

LOMOLINO, M. V. (2004). Conservation biogeography: 293–296. *In*: Lomolino, M.V. & Heaney, L.R. (ed.), **Frontiers of Biogeography: New Directions in the Geography of Nature**. Sinauer. Sunderland, MA.

LUCAS, E.M. & GARCIA, P.C.A. (2011). Distribution extension and new records for Santa Catarina, southern Brazil (Amphibia, Anura, Hylidae Rafinesque, 1815 and Hylodidae Günther, 1858). *Check List* **7**:13–16.

LUTZ, B. (1973). Brazilian species of *Hyla*. Austin & London. **University of Texas Press**.

PIRANI, R. M., PELOSO, P. L.V., PRADO, J. R., POLO, E. M., KNOWLES, L., RON, S. R., RODRIGUES, M. T., STURARO, M. J., WERNECK, F. P. (2020). Diversification history of clown tree frogs in Neotropical rainforests (Anura, Hylidae, *Dendropsophus leucophyllatus* group). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **150** (2020) 106877

PIRANI R.M, TONINI J.F.R., THOMAZ A.T., NAPOLI M.F., ENCARNAÇÃO L.C., KNOWLES L.L AND WERNECK F.P. (2022) Deep Genomic Divergence and Phenotypic Admixture of the Treefrog *Dendropsophus elegans* (Hylidae: Amphibia) Coincide With Riverine Boundaries at the Brazilian Atlantic Forest. *Front. Ecol. Evol.* **10**:765977

PORTO, T.J., CARNAVAL, A.C., & DA ROCHA, P.L.B. (2013). Evaluating forest refugial models using species distribution models, model filling and inclusion: a case study with 14 Brazilian species. *Diversity and Distributions* **19**: 330–340.

PROJETO MAPBIOMAS (2022). Coleção 4.1 da Série Anual de Mapas de Cobertura e Uso de Solo do Brasil. <https://plataforma.mapbiomas.org/map#coverage>

SLUYS, M.V., CRUZ, C.A.G., & ARZABE. C. (2010). *Dendropsophus elegans*. The IUCN Red List of Threatened Species 2010.

TONINI, J.F. R., COSTA, L.P., & CARNAVAL, A.C. (2013). Phylogeographic structure is strong in the Atlantic Forest? predictive power of correlative paleodistribution models,

not always. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. Pg 1-8,
May 2013



Figure 1. *Dendropsophus elegans* (MCN 14350) from the municipality of Dom Pedro de Alcântara, Rio Grande do Sul state, Brazil.

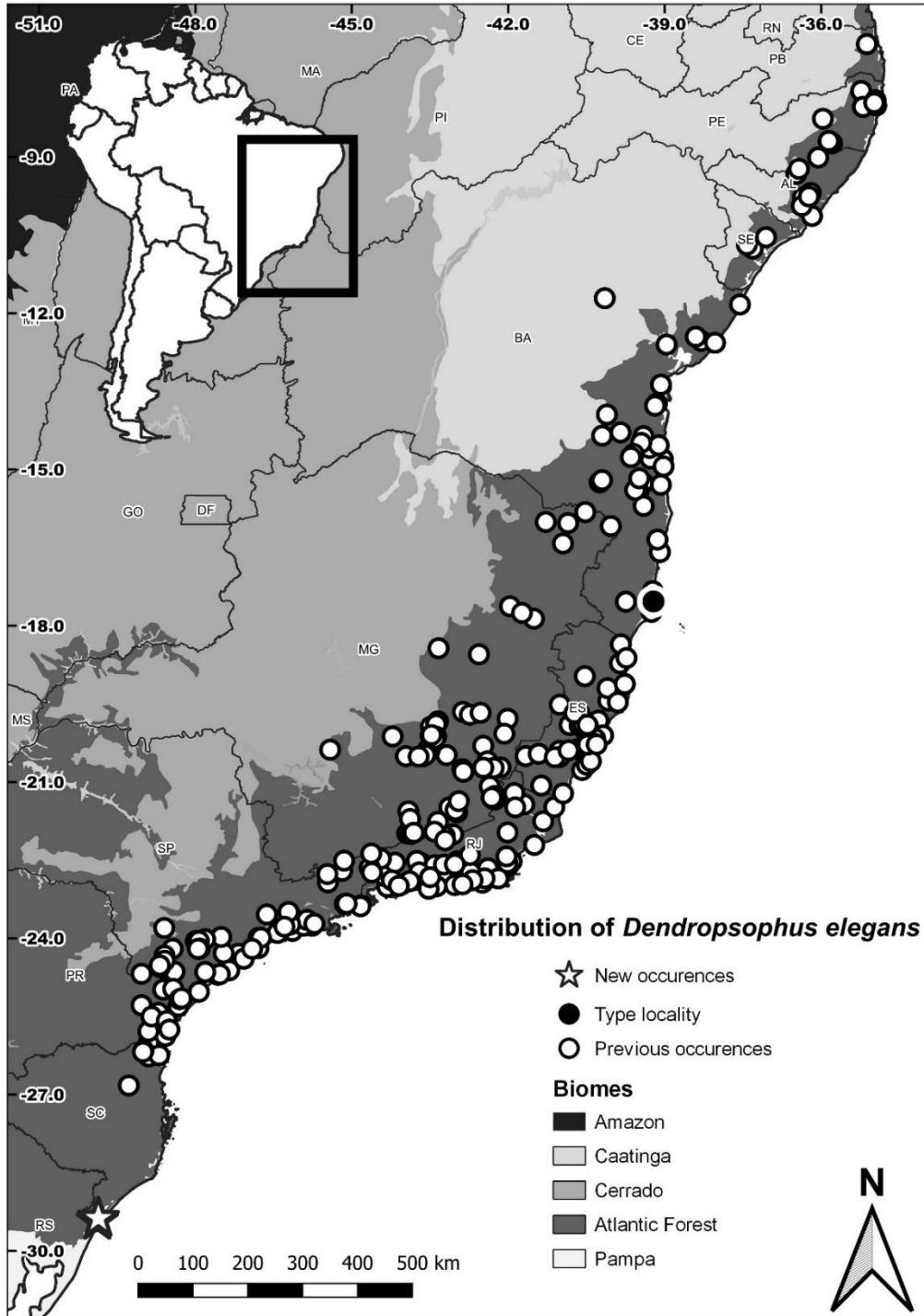


Figure 2. Geographic distribution map of *Dendropsophus elegans* in Brazil. White circle: previous records for *Dendropsophus elegans*; Black circle: type-locality in municipality of Caravelas, Bahia state; Star: new record in municipality of Três Cachoeiras, Rio Grande do Sul state, Brazil.

First record of *Scinax imbegue* Nunes, Kwet, and Pombal, 2012, (Amphibia: Anura: Hylidae) from the state of Rio Grande do Sul, southern Brazil, with a geographic distribution map

Marcelo D. Freire^{1,2}, Caroline Zank^{3,4}, Estevão J. Comitti⁵, Maria Eduarda B. Cunha^{2,8}, Bibiana Campanher^{2,8}, Dener Heiermann^{2,8}, Deivid Pereira⁸, Julia Beduschi^{3,4,6}, Erico Miranda^{1,2}, Samuel F. Gohlke¹, Lina C. Bilhalva⁷, Patrick Colombo⁸

¹ Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Bento Gonçalves 9500, Agronomia, CEP 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

² Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil

³ Biolaw Consultoria Ambiental Ltda. Av. Taquara, 98 - conj. 101 - Petrópolis, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. CEP 90420-210

⁴ Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil

⁵ Teiu Manejo de Fauna. Rua Irmãs Lauer, 25. Bom Retiro, Joinville, Santa Catarina, Brazil. CEP 89222-370

⁶ PRECISA Consultoria Ambiental LTDA, Porto Alegre, Brazil

⁷ Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias Departamento de Patologia Clínica Veterinária UFRGS. Av. Bento Gonçalves, 9090 CEP 90540-000

⁸ Secretaria do Meio Ambiente e Infraestrutura, Museu de Ciências Naturais, Setor de Herpetologia / Anfíbios, Rua Dr. Salvador França, CEP 90690-000, Porto Alegre, RS, Brazil

Locality – Four individuals were registered in one locality in the Atlantic Forest region, southern Brazil, Rio Grande do Sul state, municipality of Três Forquilhas (-29.507551° and -50.050270), with all four specimens collected by M. D. Freire and C. Zank; two adult males were collected on 15 March 2018 (SVL 29.0 mm; MCN 14415; SVL 27.24 mm, MCN 14416) during the reproductive activity at a semi-permanent body of water, in a rural zone; other two male specimens were collected at same site and environment, on 16 March 2018 (SVL 28.2 mm, MCN 14417; SVL 31.8 mm, MCN 14418). Voucher specimens are deposited in the Museu de Ciências Naturais, Secretaria do Meio Ambiente e Infraestrutura do Rio Grande do Sul (SEMA/MCN).

Comments - *Scinax imbegue* Nunes, Kwet, and Pombal, 2012 is a small to mid-sized arboreal species characterized according to the original description by morphological

characteristics as moderate size (males 22.5-31.1 mm SVL; females 23.9-31.0 mm), dorsal pattern with two parallel dorsolateral dark brown stripes bordered by internal and external white stripes and an advertisement call with pulse duration (0.005–0.008 s), interval between pulses (0.018–0.025 s) and pulse rate of 33–34 pulses/s (Nunes et al. 2012).

Herein, during recent fieldwork in the lowlands of the Atlantic Forest in north-eastern Rio Grande do Sul State, we found specimens of *Scinax imbegue* (Figure 1) and report these southernmost records, based on recent herpetological surveys and revision of the available herpetological collections in Rio Grande do Sul state: Museu de Ciências Naturais da Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul (MCN), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Additionally, we present an updated map including all the records of these species based on the revision of the literature of published papers.

During the fieldwork, we recorded males of *Scinax imbegue* in syntopy with specimens of the related species, *Scinax tymbamirim*. Since advertisement calls have been widely used for species identification and diagnosis in the genus *Scinax* (e.g., Nunes et al. 2012; Carvalho et al. 2015), for comparison purposes and aiming for the correct identification, we recorded and compare the advertisement calls features from a male specimen (MCN 14418; SVL 31.8 mm; n=30 calls) with the original description of *S. imbegue* (Nunes et al. 2012), and from previous (Pombal et al. 1995; Kwet, 2001) and recent studies (Manzano et al. 2022).

For recordings, we use digital recorders Zoom H1 built-in microphone set at 96 kHz and 24 bits. Air temperatures were measured with a digital thermometer after vocalizations were recorded for a maximum of 3 min. Calls were analyzed using Raven Pro 1.5 (<http://www.birds.cornell.edu/raven>) with the following settings: window type = Hann, window size = 256 samples; 3 dB filter bandwidth = 248 or 270 Hz; overlap (locked) = 85 or 90%; hop size = 0.54, 0.59 or 0.79 ms, DFT size = 1024 samples, grid spacing = 43.1 or 46.9 Hz. Acoustic terminology followed Köhler et al. (2017). All other settings followed the software default settings. The sound figures were made using the Seewave package (version 1.7.6; Sueur et al. 2008) in R software (version 3.1.2; R Core Team 2013).

Our measurements and analyses of the acoustic variables including spectrogram and oscillogram of the advertisement call (Figure 2) indicate that the species found in the present work is *Scinax imbegue*, based on the following acoustic variables that match with the previous studies for *S. imbegue*, as call duration (0.286 ± 0.030 s), with similar values when compared to Manzano et al. (2022) (0.33 ± 0.082 , n=124 calls, 13 males), pulses per second (40.29 ± 0.36 vs. 45.6 ± 4.2), low frequency (1378 Hz vs. 1081 Hz) and also the number of pulses (7-13 pulses), when comparing to Pombal et al. (2005) (9-14 pulses, n=24 calls). On the other hand, according to Pombal et al. (2005), *S. tymbamirim* presents advertisement call with smaller pulse intervals (ranging from 0.007-0.008 s), higher pulse duration (0.0018-0.0020 s), and dominant frequency of almost reaching 6000 Hz (5.900 Hz) as observed by Kwet (2001) for this species.

We found slight differences in calls features that could be possibly related to our small sample, differences in air temperature among recordings, and expected interpopulation variation, as observed in other studies within *Scinax* (e.g., Bevier et al. 2008; Carvalho et al. 2015; Mângia et al. et al. 2017).

Scinax imbegue is distributed in Atlantic Forest from the northern state of São Paulo to the east-central state of Santa Catarina (Nunes et al. 2012; Haddad et al. 2013; Frost, 2023). *S. imbegue* is a common species in the semi-open forest in lowland habitats and on plateau slopes of the Atlantic rainforest below 700 m a.s.l., where could be found during its reproductive season, with vocalizing males recorded on marginal vegetation at the edges of swamps and ponds in natural and anthropized areas (Figure 3) (Nunes et al. 2012; Haddad et al. 2013).

The southernmost record (Três Forquilhas; present work) is approximately 289 km from the previous record, the municipality of Blumenau (type-locality) in northern Santa Catarina state (Nunes et al. 2012).

The geographic distribution map of *S. imbegue* (Figure 4), indicates a distribution associated with the Atlantic Forest of southeastern and southern Brazil, and a marked distribution gap between Blumenau, Santa Catarina state, and the record of Três Forquilhas municipality.

Our results highlight that more inventories should be carried out in these areas to overcome the lack of information on species distribution, preferably using acoustic sampling combined with molecular data in the case of *Scinax* species, to better characterize the acoustic variation and approach the cryptic diversity within the genus (Nunes et al. 2012; Carvalho et al. 2015; Guerra et al. 2018; Lopes et al. 2019).

Acknowledgements

Literature cited

BEVIER, C.R.; GOMES, F.R. & NAVAS, C.A. (2008). Variation in call structure and calling behavior in treefrogs of the genus *Scinax*. *South American Journal of Herpetology*, **3**(3): 196-206.

CARVALHO, T. R., MARTINS, L. B., & GIARETTA, A. A. (2015). The complex vocalization of *Scinax cardosoi* (Anura: Hylidae), with comments on advertisement calls in the *S. ruber* Clade. *Phyllomedusa: Journal of Herpetology*, **14**(2), 127-137. Haddad et al. 2013.

FROST, D.R. (2023). Amphibian Species of the World: An Online Reference. Version 6.1. American Museum of Natural History, USA. Disponível em: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. Acesso em dezembro de 2022.

- GUERRA, V., LLUSIA, D., GAMBALE, P. G., MORAIS, A. R. D., MARQUEZ, R., & BASTOS, R. P., (2018). The advertisement calls of Brazilian anurans: Historical review, current knowledge and future directions. **PLoS One**, **13**(1), e0191691.
- HADDAD, C.F.B., L.F. TOLEDO, C.P.A. PRADO, D. LOEBMANN, J.L. GASPARINI & I. SAZIMA., (2013). Guia dos anfíbios da Mata Atlântica – diversidade e biologia. São Paulo: **Anolis Books**, **542 pp**.
- KWET, A. (2001). Frösche im brasilianischen Araukarienwald— Anurengemeinschaft des Araukarienwaldes von Rio Grande do Sul: Diversität, Reproduktion und Ressourcenaufteilung. Natur und Tier-Verlag, Münster, Germany.
- KÖHLER, J.; JANSEN, M.; RODRÍGUEZ, A.; KOK, P.J.R.; TOLEDO, L.F.; EMMERICH, M.; GLAW, F.; HADDAD, C.F.B.; RÖDEL, M.O. & VENCES, M. (2017). The use of bioacoustics in anuran taxonomy: theory, terminology, methods, and recommendations for best practice. **Zootaxa**, **4251**: 1-124.
- LOPES, A. G., LEE BANG, D., & GIARETTA, A. A. (2019). Revisiting the advertisement call features of *Scinax montivagus* (Anura: Hylidae). **Neotropical Biodiversity**, **5**(1), 41-46.
- MÂNGIA, S., CARVALHO, P. S., ALMEIDA, E. P., CAVALCANTI, L., SIMÕES, C. R., & SANTANA, D. J. (2017). Release call of *Scinax eurydice* (Bokermann, 1968) (Anura, Hylidae) and advertisement call of northeastern populations. **Herpetology Notes**, **10**, 237-243.
- MANZANO, M. C. R., TAKENO, M. F., & SAWAYA, R. J. (2022). Advertisement calls of 18 anuran species in the megadiverse Atlantic Forest in southeastern Brazil: review and update. **Zootaxa**, **5178**(5), 453-472.
- NUNES, I., KWET, A., & POMBAL, J. P. JR (2012). Taxonomic revision of the *Scinax alter* species complex (Anura: Hylidae). **Copeia**, **3**, 554–569.
- POMBAL JR., J.P.; BASTOS, R.P. & HADDAD, C.F.B. (1995). Vocalizações de algumas espécies do gênero *Scinax* (Anura, Hylidae) do sudeste do Brasil e comentários taxonômicos. **Naturalia**, **20**: 213-225.
- R CORE TEAM. (2013). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- SUEUR, J., AUBIN, T., SIMONIS, C. (2008): Seewave a free modular tool for sound analysis and synthesis. **Bioacoustics** **18**: 213– 226.



Figure 1. *Scinax imbegue* (MCN 14418; SVL 31.8 mm) from Três Cachoeiras municipality, Rio Grande do Sul state, Brazil.

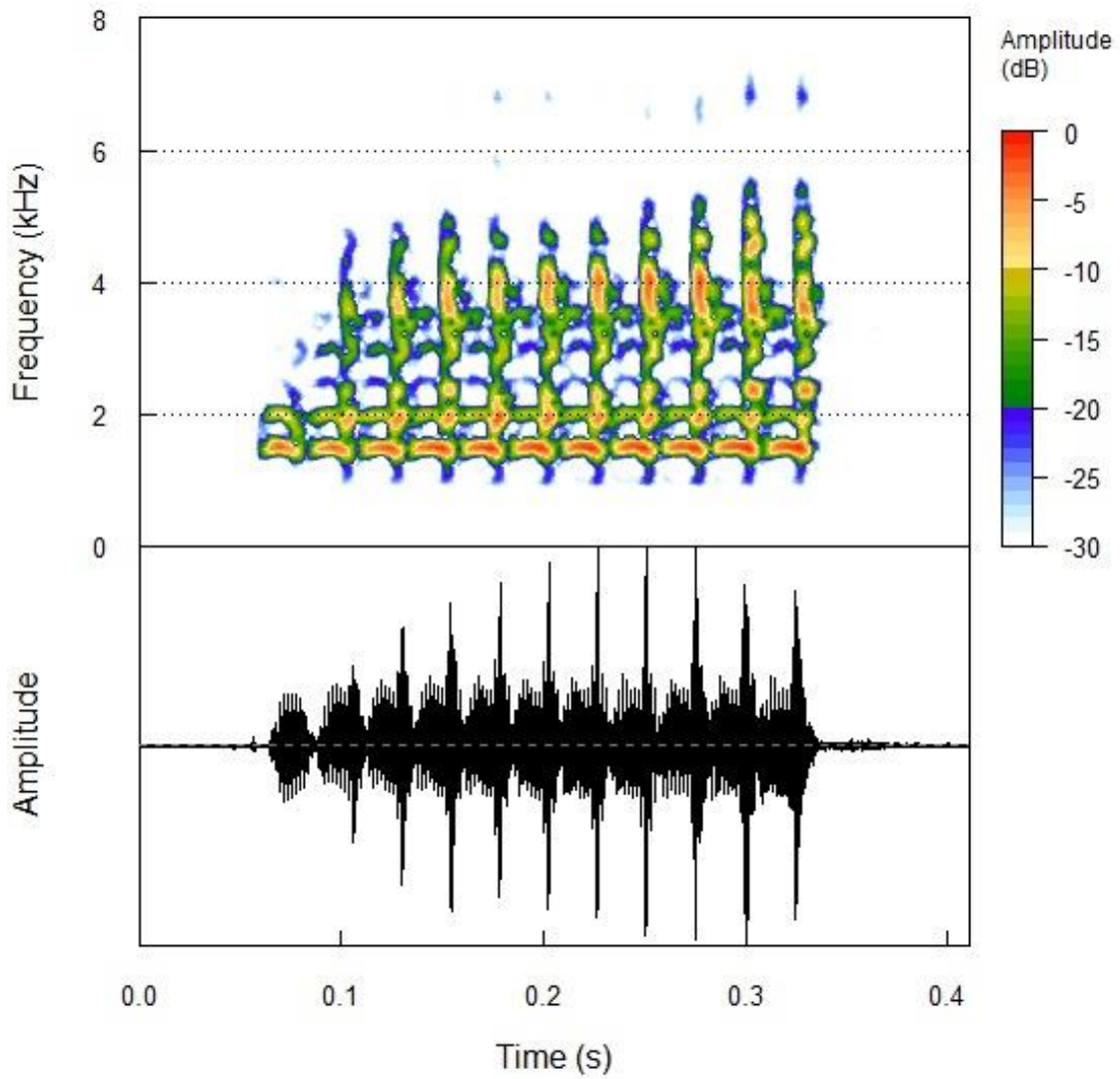


Figure 2. Spectrograms (top) and oscillograms (bottom) of the advertisement calls of *Scinax imbegue* (MCN 14418; SVL 31.8 mm) from the municipality of Três Cachoeiras, Rio Grande do Sul state, 16 march 2018, 21:15 h, air temperature 25.2 °C, water temperature 26.3 °C, Relative humidity 87%.



Figure 3. Semi-permanent body of water where *Scinax imbegue* individuals were registered in reproductive activity in the municipality Três Cachoeiras, Rio Grande do Sul state, Brazil.

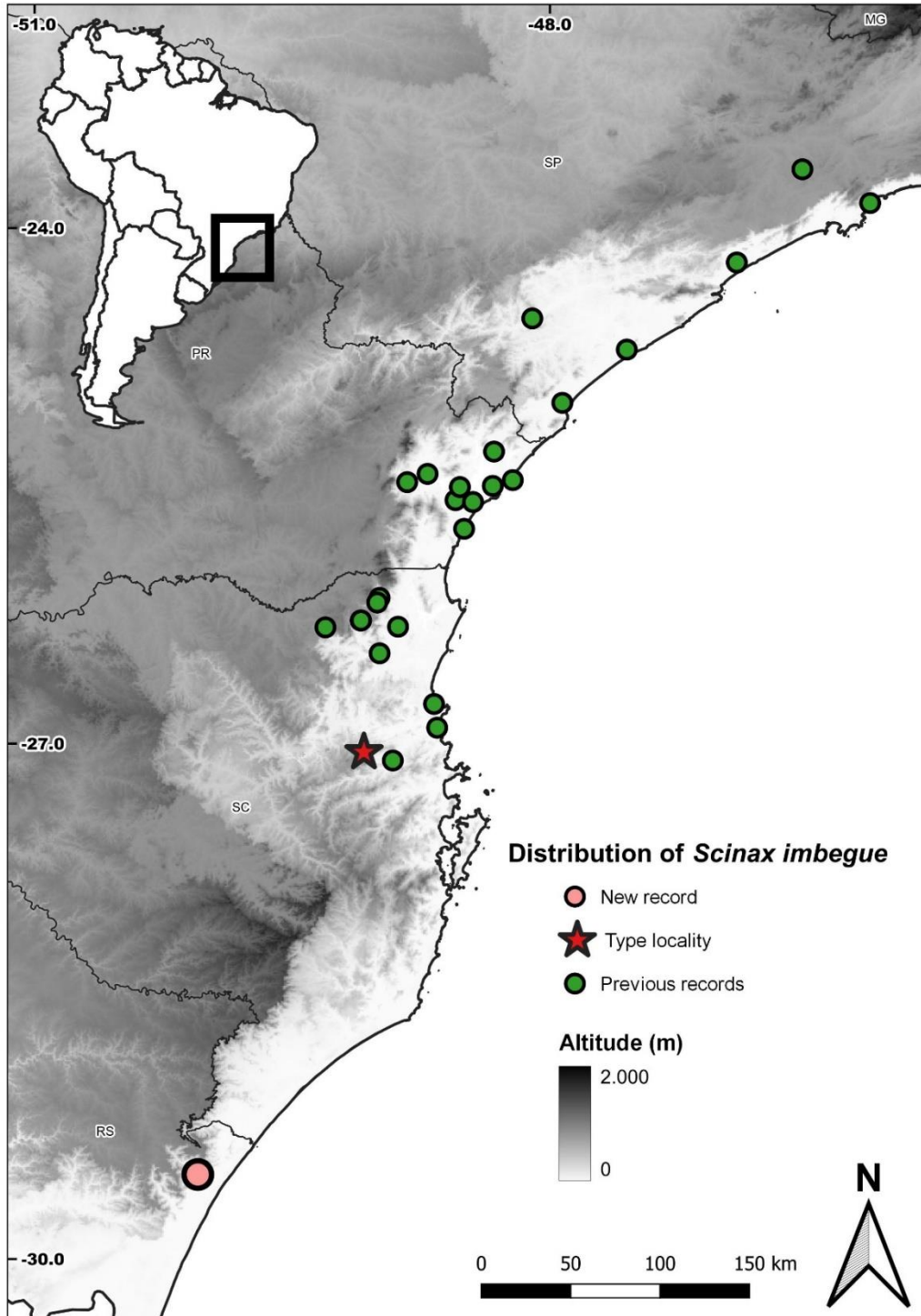


Figure 4. Geographic distribution map of *Scinax imbegue* in Brazil. Green circle: previous records for *Scinax imbegue*; Red star: type-locality in municipality of Blumenau, Santa Catarina state; Pink circle: new record in municipality of Três Cachoeiras, Rio Grande do Sul state, Brazil.

CAPÍTULO IV

A new foam-nesting frog species of the *Physalaemus henselii* group (Leptodactylidae: Leiuperinae) from the Atlantic Forest of southern Brazil

MARCELO D. FREIRE^{1,2*}, THIAGO R. CARVALHO³, IBERÊ F. MACHADO⁴, LAURA VERRASTRO²

¹*Programa de Pós Graduação em Biologia Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil*

²*Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. lauraver@ufrgs.br; <https://orcid.org/0000-0002-3094-8906>*

³*Departamento de Zoologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, Brazil. E-mail: carvalho.thiagoribeiro@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-0910-2583>*

⁴*Instituto Boitatá de Etnobiologia e Conservação da Fauna, Goiânia, GO, Brazil. E-mail: iberemachado@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-8936-0536>*

*Corresponding author. E-mail: mduarteffreire@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-5769-1215>

Abstract

We describe a new species of *Physalaemus* from the *P. henselii* group from the Brazilian Atlantic Forest based on morphology of adults and tadpoles, advertisement call, DNA sequences, and habitat use. The new species differs from all congeners by the combination of small size (male SVL 19.5–24.7 mm), dark-colored mask over the loreal region absent, glandular crest “omega-shaped” associated with a pale dorsal line on dorsum, tadpole with a medial vent tube position and with oral disc formula 2(2)/3(1) and dorsal gap, single-note advertisement call formed by incomplete pulses and call dominant frequency coincident with the fundamental harmonic. The new species is distributed in areas of the Atlantic Forest from the northeast region of the state of Rio Grande do Sul to the southern portion of the state of Santa Catarina, southern Brazil where occurs exclusively in forest swamp (*Mata Paludosa*) habitats. Additionally, the conservation assessment of *Physalaemus* **sp. nov.** indicates that it’s an endangered species and that should be an important target to promote long-term conservation of suitable areas for this newly described *Physalaemus* species.

Keywords: species description; systematics; taxonomy; advertisement calls; tadpole; conservation assessment

Introduction

Physalaemus Fitzinger, 1826 is a genus of leptodactylid frogs comprising 50 species, being the second most species-rich genus within Leptodactylidae (Lourenço *et al.* 2015; Frost, 2023). Members of the genus exhibit a wide range of body size, *e.g.*, minimum adult SVL = 14 mm in *P. bokermanni* (Nascimento *et al.* 2005) and maximum adult SVL = 51.5 mm, *P. maximus* (Cassini *et al.* 2010). An extensive phylogenetic analysis based on mitochondrial and nuclear DNA sequences 43 *Physalaemus* species (Lourenço *et al.* 2015), recognized two main clades within the genus: the *P. signifer* clade, formed by species previously allocated in the *P. signifer* and *P. deimaticus* groups (*sensu* Nascimento *et al.* 2005), plus *P. maculiventris* and *P. nattereri*; and the *P. cuvieri* clade, formed by species previously organized in five groups (*P. cuvieri*, *P. henselii*, *P. olfersii*, *P. biligonigerus* and *P. gracilis* groups; *sensu* Nascimento *et al.* 2005), plus *P. aguirrei*, *P. atim* and *P. cicada*.

Species of *Physalaemus* occupy a wide range of open and forest formations, including preserved forests and highly anthropized areas (Bokermann, 1962; Barrio, 1965; Cardoso, 1981; Giareta & Menin, 2004). The genus is widely distributed across South America east of the Andes from central Argentina to northern and northeastern Brazil outside Amazonia (Nascimento *et al.* 2005; Lourenço *et al.*, 2015), with two exceptions: *P. ephippifer* occurs in natural open formations and anthropized areas in Amazonia (Hödl, 1990; Kaefer *et al.* 2011), and *P. fischeri* is mainly associated with the Llanos of Venezuela and Colombia (Tárano, 2001; Barrio-Amorós *et al.* 2019). Two-thirds of the currently recognized species of *Physalaemus* (31 species; 66%) are endemic to the Atlantic Forest (Cardozo & Pereira, 2018; Rosa-Ferez *et al.* 2017; Leal *et al.* 2020; Leal *et al.* 2021). This is the case for all species of the *P. signifer* clade (except *P. nattereri*), and two species groups of the *P. cuvieri* clade: all six species assigned to the *P. olfersii* group and four of five species of the *P. gracilis* group (except *P. gracilis*).

Of particular interest to our study is the *P. henselii* species group (*sensu* Lourenço *et al.* 2015), formed by two species: *P. henselii* (Peters, 1872) and *P. fernandezae* (Müller, 1926). *Physalaemus henselii* is distributed in the Argentine provinces of Buenos Aires

and Entre-Rios, most of Uruguay's territory, and in the Brazilian states of Rio Grande do Sul and Santa Catarina (Barrio, 1967; Frost, 2023). In contrast, *P. fernandezae* has a much narrower distribution range, occurring in the Argentine province of Buenos Aires in addition to historical from southern Uruguay (Barrio, 1964, Klappenbach & Langone, 1995; Maneyro *et al.* 2019). These two species have a sympatric occurrence in a relatively small region covered mainly by Pampa grasslands. Both species display a high similarity in the adult and larval morphology (Barrio, 1964; Alcade, *et al.* 2006; Kolenc *et al.* 2006; Candioti *et al.* 2011), osteology (Lobo, 1996), habitat and breeding season (Barrio, 1964; Maneyro *et al.* 2008). However, they produce very distinctive advertisement calls, which are a strong diagnostic character between the two species. *Physalaemus henselii* has a multipulsed advertisement call with a broad frequency bandwidth, whereas *P. fernandezae* has a tonal (narrow bandwidth), nonpulsed call (Barrio, 1965; Maneyro *et al.* 2008; Hepp & Pombal, 2020).

We recorded and collected specimens of a taxon in the Atlantic Forest of southern Brazil that we could not assign to any of the currently nominal species of *Physalaemus*. In this study, we name and describe this taxon as a new species of the *P. henselii* group based on morphology of adults and tadpoles, advertisement call, DNA sequences, and habitat use.

Materials and methods

Field data collection

Specimens, vocalizations, and tadpoles of the new species were obtained from eight localities in southern Atlantic Forest ecosystems of southern Brazil, in the northeast of Rio Grande do Sul and the extreme south of the adjacent state of Santa Catarina (detailed locality data are linked to type specimens in the Species description section). Type and additional examined specimens, tissue samples, tadpoles, and call vouchers are housed in the following Brazilian zoological collections: Museu de Ciências Naturais da Secretaria do Meio Ambiente e Infraestrutura do Rio Grande do Sul (MCN), Coleção de Anfíbios e Répteis do Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (DZUFGRS), Coleção de Anfíbios Célio F. B. Haddad (CFBH), Universidade Estadual

Paulista, Rio Claro, São Paulo, and Coleção de Anfíbios da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG-AMP), Belo Horizonte, Minas Gerais.

Phylogenetic and genetic distance analyses

We sampled representatives of all species groups of the *P. cuvieri* and *P. signifer* clades, plus those unassigned to any species group (*sensu* Lourenço *et al.* 2015). Given that *Engystomops* is the sister taxon of *Physalaemus* (*sensu* Lourenço *et al.* 2015), we used one terminal of *E. freibergi* as the outgroup taxon. We produced new sequences of four individuals assigned to the new species and one topotype of *P. riograndensis*. The other DNA sequences were retrieved from GenBank (see Appendix 1 for Genbank accession numbers linked to voucher specimens and locality data). We extracted genomic DNA from muscle tissues using the salt precipitation method (Bruford *et al.* 1992) and amplified the mitochondrial H-strand transcription unit 1 (*H1*, formed by segments of the *12S* and *16S* ribosomal genes, and the intervening valine-*tRNA*) and a fragment of the nuclear gene recombinase activating protein 1 (*RAG1*). We amplified the fragment of the 16S rRNA using the following primers: partial 16S (948 bp) delimited by 16S AR-BR (Palumbi *et al.* 1991); complete 16S (1539 bp) by 16S AR-BR, 12S-L13 (Feller & Hedges 1998), and 16S-H10 (Hedges, 1994). We amplified the *RAG1* using the following primers: AmpF2 (Chiari *et al.* 2004) and R1-GFR (Faivovich *et al.* 2005). The reaction conditions follow those of Walker *et al.* (2018). We purified PCR products using enzymatic reaction according to Lyra *et al.* (2017), and the resulting amplified fragments were sequenced by Macrogen Inc. (Seoul, Republic of Korea). We checked, assembled, and edited manually chromatograms using Geneious v9.1.8 (Kearse *et al.* 2012). We aligned sequences using the E-INS-I strategy of the online MAFFT algorithm (Katoh *et al.* 2002). We completed a dataset comprising the *H1* segment (2415 base pairs [bp]) and the *RAG1* fragment (1349 bp). Then, we concatenated these gene fragments using SequenceMatrix 1.7.8 (Vaidya *et al.* 2011), resulting in a molecular dataset with 3764 bp.

To find the best-fitting model for each marker, we used Partition Finder v2 (Lanfear *et al.* 2017) with a greedy searching scheme (Lanfear *et al.* 2012). The *RAG1* fragment is a protein-coding gene, treated as three separate partitions. The best partition scheme was selected through the corrected Akaike Information Criterion (AICc; Hurvich & Tsai

1989), which is as follows: *HI* (GTR+I+G), *RAG 1* and *RAG 2* (GTR+I), and *RAG 3* (SYM+G).

We conducted a phylogenetic analysis through the Bayesian inference optimality criterion using MrBayes v3.2.7a (Ronquist *et al.* 2012), in two independent runs with default priors' values, each composed of four independent Monte Carlo Markov chains of 20 million generations, sampled every 1,000 generations with a burn-in of 25%. We examined the convergence of parameters by checking the effective sample size (ESS > 200), average standard deviation of split frequencies (< 0.01), and potential scale reduction factor (PSRF the closest possible to 1.0; Gelman & Rubin, 1992). Both the analysis of nucleotide substitution models and phylogenetic reconstruction were run on the CIPRES Science Gateway website (Miller *et al.* 2011). The alignment and tree files are provided as supplemental files.

We calculated the genetic distances (uncorrected *p*-distances) in the *16S* gene (flanked by primers 16Sar-L and 16Sbr-H; 529 bp) within and among species of the *Physalaemus henselii* group using Mega X (Kumar *et al.* 2018), with uniform rates among sites and the same (homogeneous) pattern among lineages. Missing data were pairwise deleted.

Morphology of adults

Adult specimens were collected by active search of calling males, euthanized with 10% lidocaine, fixed in 10% formalin, and preserved in 70% ethanol. Tissue samples were collected from specimens of the type series and stored in 100% ethanol. We measured eleven morphometric traits following Duellman (1970): snout-vent length (SVL), head length (HL), head width (HW), internarial distance (IND), eye-nostril distance (END), interorbital distance (IOD), eye diameter (ED), tympanum diameter (TD), snout length (SL), tibia length (TBL), and foot length (FL) and two according to Heyer *et al.* (1990): hand length (HAL) and thigh length (THL). Two additional traits were measured as in Kolenc *et al.* (2011): (AL) arm length; (FAL): forearm length. Specimens were examined and measured to the nearest 0.1 millimeters using a micrometric ocular fitted in a stereoscopic microscope (Motic SMZ 168 TL), except SVL, measured using digital calipers. Sex was determined by direct examination of gonads, nuptial pads, and vocal slits. Color patterns of specimens in life were based on photographs taken in the field or under laboratory conditions. For the description of skin texture and general morphological

structures, we followed Lynch & Duellman (1997) and Kok & Kalamandeen (2008). Additionally, we followed Luna *et al.* (2018) for the terminology of nuptial pads, and that of Ferraro *et al.* (2020) for inguinal macroglands and thigh coloration.

Specimens used for morphological comparisons are listed in Appendix 2 and morphological comparisons were based on the literature, both original species descriptions and other studies (see Appendix 3).

Morphology of tadpoles

During the breeding season of the new species, three egg foam nests were collected in the field and transported to the laboratory for the development of tadpoles (MCN 14504). Tadpoles (N = 17) at stages from 27 to 38 (Gosner, 1960) were euthanized and preserved in 5% formaldehyde. Morphological traits were examined and measured to the nearest 0.1 millimeters using a micrometric ocular fitted in a stereoscopic microscope (Motic SMZ 168 TL). The terminology and measurements used for the description of the tadpole included 24 morphometric traits according to multiple references, as follows: (1) Altig & McDiarmid (1999): total length (TL), body length (BL), tail length (TAL), tail musculature height (TMH), maximum tail height (MTH), internarial distance (IND), interorbital distance (IOD), and tail musculature width (TMW); (2) Lavilla & Scrocchi (1986): body maximum width (BMW), body width at nostrils level (BWN), body width at eye level (BWE), body maximum height (BMH), rostro-spiracular distance (RSD), fronto-nasal distance (FN), eye-nostril distance (END), nostril major axis (N), extranasal distance (EN), eye diameter (E), extraocular distance (EOD), oral disc width (OD), dorsal gap length (DG), and ventral gap length (VG); (3) Grosjean (2005): dorsal fin height (DFH) and ventral fin height (VFH). Measurements are reported as mean \pm SD, range values (min-max); proportions of morphometric measurements follow Pezzuti *et al.* (2021). Photographs of the specimen (stage 36) in dorsal, lateral, and ventral views, and oral disc structures were taken using a stereoscopic microscope (Zeiss Standart AXiostar) with a digital camera (Canon A620 Dc capture).

Morphological comparisons of the tadpole of the new species with those of original species descriptions of congeners were based on the available literature and/or other studies, and can be consulted on Appendix 4. Additionally, we used the comparative table of morphological characters of Nascimento *et al.* (2021), the comparative study of

Ruggeri & Weber (2012), and adopt Candiotti *et al.* (2011) for the configuration of the buccal formula of *Physalaemus* tadpoles.

Acoustic analysis

One of us (MDF) recorded calls of one male (voucher specimen: MCN 14400) from the type locality of the new species (Dom Pedro de Alcântara, Rio Grande do Sul, Brazil), using a Sony PCM-M10 digital recorder and a Sennheiser M6/K6 directional microphone. The recording was made at 17:20 on 9 October 2012 at Porto Fagundes (-29.399393°, -49.853924°; 12 m elevation), in the municipality of Dom Pedro de Alcântara, in the Brazilian state of Rio Grande do Sul. Air temperature was 22°C. We stored the sound file as an uncompressed wave file at a sampling rate of 44.1 kHz and a sample size of 16 bits. The sound file was deposited in the acoustic repository of CFBH, under the accession CFBH-voc 22. We analyzed the calls using a customized version (v0.9.6.1) of Soundruler (Gridi-Papp, 2007) interfacing with Matlab v6.5.2 scripts (Matlab, 2004) through automated procedures for quantification of acoustic traits. We set analytical settings for the automated analysis in Soundruler as follows: window type = Hann, fast Fourier transform (FFT) size = 1024 samples, FFT overlap = 90%; pulse detection with critical amplitude modulation = 1.5, smoothing = 500 samples, resolution = 1 sample; pulse delineation with smooth factor = 1, smoothing = 250 samples, resolution = 1 sample. We applied a high-pass filter up to 200 Hz to sound files in Soundruler before conducting the acoustic analyses to reduce background noise. We quantified the note repetition rate manually in Audacity v3.0.0 (Audacity Team, 2021). Analytical parameters and acoustic definitions followed Carvalho *et al.* (2019). We produced sound figures using Seewave v2.1.6 (Sueur *et al.* 2008) and tuneR v1.3.3 (Ligges *et al.* 2018) in R v4.0.5 (R Core Team 2021). We used the following spectrogram settings: window type = Hann, fast Fourier Transform (FFT) size = 512 samples, FFT overlap = 90%; the darkness of frequency components indicates intensity in a relative 36-dB scale (0 dB = maximum amplitude of signal). Sound figures of comparative species are as follows: *P. henselii* (recording CFBH-voc 23), *P. fernandezae* (recording BCR_0013, made available by D. Barrasso), and *P. riograndensis* (recording FZ 6079 obtained from Fonoteca Zoológica del Museo Nacional de Ciencias Naturales de Madrid).

Results

Species description

Physalaemus XXXX sp. nov.

(Figs. 1-5; Table 1)

Holotype. MCN 14400, adult male, August 9, 2012, Porto Fagundes, “Variante da Gruta” (-29.399393° S, -49.853924° W, datum WGS 84; 12 m above sea level [a.s.l.]), municipality of Dom Pedro de Alcântara, Rio Grande do Sul, Brazil, M. D. Freire and P. Colombo.

Paratypes. Five adult males: MCN 14398, MCN 14399, MCN 14401, MCN 14402 and CFBH 47193, all collected with the holotype by M. D. Freire and P. Colombo. Three adult males: MCN 14389, MCN14390, MCN 14391, collected on January 29, 2006 by M. D. Freire. Three adult males: MCN 14392, MCN 14393 and MCN 14394; Two adult females: MCN 14395 and MCN 14396, collected on October 31, 2007 by M. D. Freire. One adult male: MCN 14397, collected on September 1, 2011 by M. D. Freire, and P. Colombo. One adult male: MCN 14403, collected on September 20, 2019 by M. D. Freire, M. M. Malleret and V. Santos.

Additional material. Three adult males (MCN 10264–5, 10267) and six adult females (MCN 10200, MCN 10261–3, MCN 10266, MCN 10249), Lagoa do Jacaré (approximate coordinates: -29.326889° S, -49.811735° W, 16 m a.s.l.), municipality of Torres, state of Rio Grande do Sul, collected on July 12, 1976 by P. C. Braun, J. J. Rodrigues, S.S.G.M., T. de Lema, S. Scherer, G. M. Pereira and A. A. Lise. Two adult males (MCN 11699, MCN 11702) and two adult females (MCN 11696, MCN 11704), Lagoa do Jacaré, municipality of Torres, state of Rio Grande do Sul, collected on December 22, 1976 by P. C. Braun. One adult female (MCN 14404), municipality of Três Cachoeiras (-29.517294° S, -49.981052° W, datum WGS 84; approximately 14 m a.s.l.), district of Fernando Ferrari, state of Rio Grande do Sul, collected on September 21, 2019 by M. D. Freire, V. Santos and M. M. Malleret. One adult male (MCN 14405), municipality of Capão da Canoa (-29.654409° S, -50.004851° W, datum WGS 84; approximately 16 m a.s.l.), district of Arroio Teixeira, state of Rio Grande do Sul, collected at September 26,

2020 by M. D. Freire and M. M. Malleret. One adult male (MCN 14406), collected at Parque Estadual de Itapeva (-29.378938° S, -49.771600° W, approximated from Google Earth™; approximately 16 m a.s.l.), municipality of Torres, state of Rio Grande do Sul, collected on November 5, 2020 by B. R. Campanher, M. E. B. Cunha, P. Colombo and P. C. Barth. One adult male (MCN14505), collected at Cornélios river vicinity, between Lagoa dos Quadros and Itapeva (29.62° S; 50.62° W; approximately 14 m a.s.l.), municipality of Terra de Areia, state of Rio Grande do Sul, collected on January 20, 2022 by T. Kunz; One male (MCN 14407), municipality of Balneário Gaivota (-29.149042°S, -49.607890° W, datum WGS 84; approximately 10 m a.s.l.), state of Santa Catarina, collected on July 16, 2020 by L. F. R. Ugioni.

Phylogenetic affinities and genetic divergence

All four sequenced individuals assigned to *Physalaemus* **sp. nov** were recovered as one clade with maximum support (posterior probability, PP = 1.0; Fig 1). The new species was recovered as part of the *P. henselii* species group (PP = 1.0), being sister of the clade formed by the other two species of the group, *P. henselii* and *P. fernandezae* (PP = 1.0). The *P. henselii* species group was recovered as sister of the other four species group of the *P. cuvieri* clade (PP = 1.0).

Intraspecific genetic distance of *P. sp. nov* in *I6S* ranges from none to 0.6%, considering two sampled localities (Dom Pedro de Alcântara, the type locality, and Balneário Gaivota; see Fig. 1 and Appendix 1 for locality data). In comparison with the other two species of the group, the genetic divergence ranges from 12.4 to 13.2% between *P. sp. nov.* and *P. henselii*, and from 9.3 to 10.0% between *P. sp. nov.* and *P. fernandezae*. *Physalaemus henselii* and *P. fernandezae* have a 7.9% genetic distance between them.

Position Figure 1

Diagnosis

Physalaemus **sp. nov.** (Fig. 2) is recognized within *Physalaemus* by the following combination of character states: (1) tarsal tubercle present; (2) small size in the genus (male SVL 19.5–24.7 mm); (3) sub-elliptical snout in dorsal view and rounded in lateral view; (4) dark-colored mask over the loreal region absent; (5) pale-colored supralabial stripe absent; (6) longitudinal glandular crests on the dorsum absent; (8) glandular crest “omega-shaped” associated with a pale dorsal line on dorsum; (9) inguinal gland absent; (10) ventral surface of the body and limbs reddish brown speckled with pale spots; (11) pale-colored longitudinal stripe on throat absent; (12) tadpole with a medial vent tube position; (13) tadpole with oral disc formula 2(2)/3(1) and dorsal gap (configuration C3 *sensu* Candiotti *et al.* 2011); (14) single-note advertisement call; (15) call notes formed by incomplete pulses; (16) call dominant frequency coincident with the fundamental harmonic.

Position Figure 2

Comparisons with congeners (adults). *Physalaemus* **sp. nov.** is distinguished from all 19 species of the *P. signifer* clade (*P. angrensis*, *P. araxa*, *P. atlanticus*, *P. bokermanni*, *P. caete*, *P. camacan*, *P. claptoni*, *P. crombiei*, *P. deimaticus*, *P. erythros*, *P. irroratus*, *P. maculiventris*, *P. moreirae*, *P. nanus*, *P. nattereri*, *P. obtectus*, *P. rupestris*, *P. signifer*, and *P. spiniger*) by the presence of a tarsal tubercle, absent in all species of the *P. signifer* clade (Nascimento *et al.* 2005; Heyer *et al.* 1990; Leal *et al.* 2021). Regarding the *P. cuvieri* clade, the new species is distinguished from species of the *P. gracilis* group (*P. barrioi*, *P. carrizorum*, *P. gracilis*, and *P. jordanensis*; except *P. evangelistai* and *P. lisei*) by a smaller male SVL (19.5–24.7 mm)—combined SVL range from 27.0 to 32.0 mm in the four species of the *P. gracilis* group. The new species is also distinguished by the absence of a pale-colored longitudinal stripe on throat, usually present in all species of the *P. gracilis* group (Bokermann, 1967; Braun & Braun, 1977; Langone, 1995; Provete *et al.* 2012; Cardozo & Pereyra, 2018).

The new species is distinguished from species the *P. biligonigerus* group, except *P. riograndensis* (*P. biligonigerus*, *P. marmoratus*, and *P. santafecinus*) by a smaller male

SVL (19.5–24.7 mm) —combined SVL range from 28.0 to 47.5 mm in the three species of the *P. biligonigerus* group. *Physalaemus* **sp. nov.** is also distinguished from all four species of the *P. biligonigerus* by the absence of an inguinal gland (Barrio, 1965; Ferraro *et al.* 2020; Vaz *et al.* 2020).

The new species is distinguished from species of the *P. olfersii* group, except *P. feioi*, *P. insperatus*, and *P. orophilus* (*P. lateristriga*, *P. maximus*, *P. olfersii*, and *P. soaresi*) by a smaller male SVL (19.5–24.7 mm) — combined SVL range from 26.2 to 51.5 mm in the four species of the *P. olfersii* group. *Physalaemus* **sp. nov.** is also distinguished from all seven species of the *P. olfersii* group by a subelliptical snout shape in dorsal view (pointed in the *P. olfersii* group) and the absence of a dark-colored mask in the loreal region (absent in *P. sp. nov.*), and absence of a white-colored *canthus rostralis* (Cassini *et al.* 2010).

The new species is distinguished from species of the *P. cuvieri* group, except *P. albonotatus*, *P. cuvieri*, and *P. erikae* (*P. albifrons*, *P. centralis*, *P. cuqui*, *P. cuvieri*, *P. ephippifer*, *P. fischeri*, and *P. kroyeri*) by a smaller male SVL (19.5–24.7 mm)—combined SVL ranges from 25.9 to 42.9 mm in the seven species of the *P. cuvieri* group. *Physalaemus* **sp. nov.** is also distinguished by the absence of an inguinal gland (present in *P. centralis* and *P. erikae*) and the absence of bright colors in the hidden parts of the thigh (present in *P. cuvieri*, *P. ephippifer* and *P. fischeri*) (Bokermann, 1962; Cei, 1980, Lobo, 1993; Duellmann, 1997; Ferraro, 2020).

From the three species of the *P. cuvieri* clade unassigned to a species group (*P. atim*, *P. aguirrei* and *P. cicada*; combined SVL range from 25 to 30.1 mm) the new species is distinguished by a smaller SVL (except *P. aguirrei*), absence of inguinal gland (except *P. atim*);

From the two species of the *P. cuvieri* clade not assigned to any species group (*P. aguirrei* and *P. cicada*), the new species is distinguished by the presence of supernumerary tubercles on feet (absent in *P. atim*); dorsal skin texture with scattered tubercles (smooth in *P. atim* and *P. aguirrei*); absence of bright colors in the hidden parts of the thigh (present in *P. cicada* and *P. aguirrei*) (Bokermann, 1966a, b; Brasileiro & Haddad, 2015).

Physalaemus **sp. nov.** is distinguished from the other two species belonging to the *P. henselii* group by having a sub-elliptical snout in dorsal view and rounded in lateral view, whereas it is acuminate in lateral view and pointed in dorsal view in *P. fernandezae* and *P. henselii*. The new species has an omega-shaped glandular mark associated with a pale

blotch on the dorsum, absent in *P. fernandezae* and *P. henselii*. The new species lacks longitudinal glandular crests, whereas they are present in the other two species: one or two glandular crests, interrupted or not, in *P. fernandezae* (Barrio, 1964; Barrio, 1965), and up to six glandular crests, interrupted or not, in *P. henselii* (Barrio, 1964; Barrio, 1965). Also, *P. sp. nov.* lacks a pale stripe from the snout tip running over the upper lip and extending to the arm insertion present in *P. henselii* and *P. fernandezae*. Additionally, *P. sp. nov.* has a ventral region with a reddish-brown background color, speckled with pale spots. The venter is whitish, speckled with pale spots in *P. fernandezae* (Barrio, 1965) and whitish, immaculate yellowish, or reddish-orange in *P. henselii* (Ceï, 1980, Barrio, 1965).

Comparisons with congeners (tadpoles). The tadpole of *P. sp. nov.* can be diagnosed by the following combination of external morphological traits: (1) eyes dorsal, with dorsolateral orientation, (2) nostrils oval with a cutaneous extension margin, (3) spiracle sinistral oriented posterodorsally, (4) vent tube medial, (5) oral disc ventral, (6) marginal papillae in a single row on the dorsal gap and angular region, bisseriated to trisseriated in subangular and ventral region, (7) submarginal papillae absent, (8) labial tooth row formula 2(2)/3(1) and dorsal gap on marginal papillae; configuration C3 (*sensu* Candioti *et al.* 2011), (9) dorsal fin originating on the posterior third of the body.

The tadpole of the new species differs from those of the *P. cuvieri* clade by the position of a medial vent tube, from species of the *P. gracilis* group (*P. barrioi*, *P. evangelistai*, *P. gracilis*, *P. jordanensis* and *P. lisei*; dextral position) (except *P. evangelistai*) (Langone, 1989; Both *et al.* 2006; Gomes *et al.* 2010; Provete *et al.* 2012; Oliveira *et al.* 2013); from species the *P. biligonigerus* group (*P. biligonigerus*, *P. marmoratus*, *P. riograndensis*, and *P. santafecinus*) (except *P. riograndensis*) (Perotti & Cespedez, 1999; Nomura *et al.* 2003; Borteiro & Kolenc, 2007); and from species of the *P. cuvieri* group (*P. albifrons*, *P. albonotatus*, *P. centralis*, *P. cuqui*, *P. cuvieri* and *P. fischeri*) (except *P. centralis* and some population of *P. cuvieri*) (Bokermann, 1962; Rosa-Ferez & Jim, 1993; Duellmann, 1997; Perotti, 1997; Kehr *et al.* 2004; Rosa-Ferez & Nomura, 2006; Oliveira *et al.* 2010).

The tadpole of the new species differs from those of *P. cuvieri* clade in the *P. henselii* group, by having the oral disc configuration with a buccal formula 2(2)/3(1) associated

with a dorsal gap (C3 category; *sensu* Candioti *et al.* 2011), whereas the tadpoles of *P. henselii* and *P. fernandezae* have a buccal formula 2/3, reduced P3, and dorsal and ventral gap (C5 category; *sensu* Candioti *et al.* 2011) (Alcade *et al.* 2006; Kolenc *et al.* 2006); from species in the *P. cuvieri* group (*P. albifrons*, *P. albonotatus*, *P. centralis*, *P. cuqui*, *P. cuvieri* and *P. fischeri*) that show oral disc configuration with a buccal formula 2/3 associated with dorsal, ventral and ventrolateral gaps (C4 category; *sensu* Candioti *et al.* 2011) and alternatively buccal formula 2/2 with dorsal and ventrolateral gap (C1 category; *sensu* Candioti *et al.* 2011; *P. centralis*) (except *P. fischeri*) (Bokermann, 1962a; Rosa-Ferez & Jim, 1993; Duellmann, 1997; Perotti, 1997; Kehr *et al.* 2004; Oliveira *et al.* 2010); from *P. biligonigerus* group (*P. biligonigerus*, *P. marmoratus*, *P. riograndensis*, and *P. santafecinus*) that have oral disc configuration of buccal formula 2/2 and dorsal gap (C2 category; *sensu* Candioti *et al.* 2011; *P. biligonigerus* and *P. santafecinus*) and alternatively C1 category (*sensu* Candioti *et al.* 2011; *P. marmoratus* and *P. riograndensis*) (Perotti & Céspedes, 1999; Nomura *et al.* 2003; Borteiro & Kolenc, 2007).

Comparisons with congeners (advertisement call). The advertisement call of *P. sp. nov.* is unique in *Physalaemus* by consisting of a single note formed by incomplete pulses (not separated by silent intervals), with the dominant frequency contained within the fundamental harmonic, which displays a subtle downward frequency modulation along the note. From species of the *P. signifer* clade, the new species is distinguished by a pulsed note (nonpulsed in *P. nattereri*; Hepp & Pombal, 2020). The new species has a single-note call, whereas the calls of *P. claptoni* and *P. rupestris* are formed by two types of notes (Leal *et al.* 2020; Leal *et al.* 2021). *Physalaemus sp. nov.* is distinguished by having notes with incomplete pulsing (complete pulsing in *P. angrensis*, *P. atlanticus*, *P. bokermanni*, *P. crombiei*, *P. irroratus*, *P. moreirae*, *P. nanus*, and *P. obtectus*; see Hepp & Pombal, 2020). Also, the call note of the new species is distinguished by a noticeable downward frequency modulation (431 Hz), whereas those of species of the *P. signifer* have subtle frequency modulation or no modulation at all (Hepp & Pombal, 2020).

In the *Physalaemus cuvieri* clade, the pulsed call of *P. sp. nov.* differs from the nonpulsed calls of all four species of the *P. biligonigerus* group (*P. biligonigerus*, *P. marmoratus*, *P. riograndensis*, and *P. santafecinus*; Barrio, 1965; Giaretta & Menin, 2004), in addition to *P. aguirrei* (Bokermann, 1966b)—not assigned to any species group—and three

species of the *P. gracilis* group (*P. barrioi*, *P. carrizorum*, and *P. gracilis*; Barrio, 1965; Provete *et al.* 2012; Cardozo & Pereyra 2018). From the other three species of the *P. gracilis* group (*P. evangelistai*, *P. jordanensis*, and *P. lisei*), the new species is distinguished by having incomplete pulsing throughout the note, whereas the note of *P. jordanensis* has complete pulsing (Giaretta *et al.* 2009) and the note of *P. evangelistai* has incomplete pulsing restricted to the last third or half of the note (Hepp & Pombal, 2020), and having a downward frequency modulation (when present, upward modulation in *P. lisei*; Morais & Kwet, 2012).

Physalaemus sp. nov. is distinguished by a much shorter call (589–697 ms) from all six species of the *P. olfersii* group (*P. feioi*: 2500–5600 ms, *P. lateristriga*: 2300–5500 ms, *P. maximus*: 1090–2310 ms, *P. olfersii*: 2600–5100 ms, *P. orophilus*: 3100–5200 ms, and *P. soaresi*: 1340–2400 ms; Weber *et al.* 2005; Baêta *et al.* 2007a; Cassini *et al.* 2010), and much longer than that of *P. cicada* (4–47 ms; Hepp & Pombal, 2020), which was not assigned to any species group.

From species of the *P. cuvieri* group, the new species is distinguished by a pulsed call (nonpulsed in *P. albifrons*, *P. atim*, *P. cuvieri*, *P. erikae*, *P. fischeri*, *P. kroyeri*; see Hepp & Pombal, 2020). *Physalaemus sp. nov.* has incomplete pulsing throughout the note, whereas the note of *P. ephippifer* has incomplete pulsing restricted to the last third of the note (Kaefer *et al.* 2011). The new species is distinguished by a shorter note (589–697 ms) than those of *P. albonotatus* (1333–1429 ms; Hepp & Pombal, 2020) and *P. cuqui* (1291–1948 ms; Ferrari & Vaira, 2001). *Physalaemus sp. nov.* is distinguished by a noticeable downward frequency modulation (upward modulation in *P. centralis*; Guerra *et al.* 2017).

From the other two species of the *P. henselii* group, the new species is distinguished by a downward frequency modulation (upward in *P. fernandezae*; Barrio, 1965), longer note duration (589–697 ms) than *P. henselii* (137–211 ms; Maneyro *et al.* 2008; 289–493 ms; Hepp & Pombal, 2020), and a lower dominant frequency (969–1055 Hz) than *P. fernandezae* (2885–3230 Hz; Hepp & Pombal, 2020) and *P. henselii* (4800–6200 Hz; Barrio, 1965).

Description of the holotype. Adult male, SVL 24.14 mm; Slightly robust body (Fig. 2). Head slightly wider than long (HL/HW=0.95). Head length (HL = 25% SVL) slightly less than its width (HW = 26% SVL). Short snout (13% SVL), subelliptical in dorsal view

and rounded in lateral view, slightly projecting beyond the lower jaw (Fig. 4A, B). Nostril ovoid, slightly protruding, oriented laterally, closer to the tip of the snout than the eyes. Eyes prominent, (10 % SVL) their diameter approximately 30% greater than the eye-nostril distance ($END/ED = 0.69$). Diameter of the eyes greater than the internarial distance, less than the interorbital distance and almost equal to the length of the snout. Pupil horizontal and elliptical. Tympanum indistinct with tympanic membrane not evident (Fig. 2B). Glandular omega-shaped mark in the mid-region of the dorsum (Fig. 2, 3A). Supratympanic fold weakly marked extending from behind the eyes to the shoulder. Dorsolateral fold not evident. *Canthus rostralis* distinct, rounded and concave loreal region. Vocal sac single, subgular, well-developed, externally expanded with extension in the gular region, chest and base of the arms. Tongue spatulate, broad in its anterior portion and slightly elongated, constricted in its anterior third, free along the lateral and posterior margins. Vocal slit small and longitudinal, originating on the sides of the tongue and extending towards the corner of the mouth. Choanae rounded, separated from each other by a distance as large as six times its diameter. Maxillary and premaxillary teeth present; vomerine teeth absent. Inguinal gland absence, but associated tissue with granulations present. Upper arm relatively sharp and long. Forearm slightly hypertrophied, long (23% SVL) and longer than the upper arm (Fig. 3A). Fingers slender and short, not expanded, emarginate without membrane at the base; relative length of the fingers $I < II < IV < III$.

Position Figure 3

Position Figure 4

Position Figure 5

Position Table 1

Inner and outer metacarpal tubercle single, elliptical, inner about 20% larger than outer (Fig. 4A) Subarticular tubercles rounded and projecting, prominent on fingers II, III, IV. Supernumerary tubercles of large and medium size; greater supernumerary tubercles

approximately equal in size to the subarticular tubercle of fingers II and III. Extensive nuptial pads on the first finger, occurring at the base of the inner metacarpal tubercle to near the finger joint and on the dorsal portion of the hand near the subarticular tubercle of finger I. Slightly robust legs (Fig. 3A), tibia length slightly longer than the thigh (TBL = 45% SVL) and the sum of the tibia length plus the thigh length lower than the SVL. Foot length greater than tibia and thigh. Robust foot, with short, tapered toes and non-expanded tip with no evident border (Fig. 4B); membrane at the base; relative length of toes I<II<V<III<IV; tarsal fold not evident and tarsal tubercle small, elliptical. Inner and outer metatarsal tubercle simple, ovoid, inner and slightly larger than outer, subarticular tubercle rounded, projecting. Supernumerary tubercles small and numerous, arranged in a row along the palmar region.

Body texture densely covered with tubercles on dorsum beyond dorsal portion of tibia and thigh; Dorsal surface of the hand, tibia, thigh, head, and pelvic region covered with tubercles of medium to large size, some coalescing and forming sparse groups (Fig. 2, 7); smaller tubercles on the upper arm and forearm; head with smaller to granulated tubercles (Fig. 4B); dorsal surface of the foot with spaced small tubercles and finely granular on the eyelid. Omega-shaped glandular chain in the mid-back region. Soft skin ventrally. Cloacal region quite granular with medium-sized tubercles, reaching the thigh posteroventrally.

Position Figure 6

Measurements (mm) of the holotype: SVL (24.1), HL (5.6), HW (6.1), IOD (2.5), IND (2.3), THL (10.2), TBL (10.0), FL (11.4), HAL (5.4), SL (2.5), END (1.5), ED (2.5), TD (1.4), FOL (5.7), AL (4.4).

Color of the holotype in life. Dorsum with variable coloration, showing a mosaic of pastel colors and tones including light brown with grayish, greenish, orange-brown to sepia tones (Fig 4); dorsal surface including the dorsal region of the hand, tibia, thigh, and head covered with sparse tubercles of different sizes, some coalescing and forming sparse groups with brown to light brown coloration, from behind of the head to the posterior part of the body; head with smaller tubercles and sacral region and urostyle with a few large dark tubercles. The boundary of the tubercle zone is defined between the

dorsal region and the lateral region of the body and at the boundary between the lateral to ventral region changes to marbled coloration.

Mid-dorsal line is a thin clear glandular longitudinal line, from the tip of the snout to the light beige urostyle region, with the mid-line showing an omega-shaped glandular chain surrounding a beige circular spot; loreal region with a mask shows irregular dark and light bands on the lateral region of the head (supralabial), between the tympanum and tip of the snout; *canthus rostralis* and loreal region and lateral surface of the snout and supralabial region painted with light and dark irregular transverse bands, occurring from the nostril region to the mouth commissure; irregular triangular spot on the head with light beige coloration, from the interorbital region in the anterior portion of the eyelid to the tip of the snout, with some faded spots scattered in contact with the interorbital band; dark, narrow, and irregular band in the interorbital region, covering part of the eyelid.

Dark transverse stripes/bars covering the dorsal surfaces of the thigh, tibia, foot, plus part of the posterior part of the body, above to the groin region; dark dorsolateral narrow band behind the eyes and along the supratympanic fold up to the arm insertion; from the arm to the groin area, it has a faded brown pattern speckled with light spots; dorsal surface of the upper arm and forearm is light brown (light sepia in younger specimens), with dark irregular spots/bars; fingers with small spots and some sparse spots on feet; ventral surface of the body, including the gular region, chest, and belly, in addition to the fore and hind limbs reddish brown speckled with light spots, sometimes united (marbled); belly with areas speckled with larger light spots; ventral surface of upper arm and forearm with spots of intermediate size and thigh, tibia, and foot with smaller spots; horizontal and elliptical pupil with golden-colored iris with black flecks.

Position Figure 7

Variation. Measurements and proportions of 33 specimens (22 adult males and 11 females) are given in Table 1. The background dorsal coloration could vary from grayish (Fig. 7A), brownish stained with sepia tones (Fig. 7B), brown (Fig. 7C) to light brown (Fig. 7D). The ventral surface of the body, gular region, chest, and belly, could vary from more or less speckled areas with larger or small light to dark brown spots, sometimes forming a marbled pattern. *Canthus rostralis*, loreal region, and supralabial with light and

dark irregular transverse bands more or less defined and painted; dorsal surface of the upper arm and forearm with irregular spots/bars that in some individuals could be light to dark brown or pale brown. The dorsal surface of the upper arm was stained with light sepia coloration in younger specimens.

Description of the tadpole. The tadpole of *Physalaemus* sp. nov. can be classified in the benthic ecomorphological guild (Section II.A: 1) of Altig and McDiarmid (1999). At stage 37 (Figure 8, Table 2) this has approximately 18 mm of TL (17.7 ± 0.4 ; 17.3-18); depressed body (BMH/BMW = 0.82 ± 0.05); slightly compressed in dorsal view and ovoid in lateral view, with greater width in the middle of the body, right behind the eyes and close to the base of the spiracle (Fig 8B). Body length slightly greater than 1/3 of the total length (BL/TL = 0.38 ± 0.01), and width close to 2/3 of the body length (BMW/BL = 0.66 ± 0.04). Snout is rounded, slightly truncated in lateral view and ovoid dorsal view (Fig. 8A); small nostrils (N/BMW = 0.05 ± 0.04), ovoid, nostril aperture directed dorsally (EN/BWE = 0.33 ± 0.04), surrounded by a small margin rim projection; nostrils positioned closer to the tip of the snout than to the eyes (FN/EN = 0.44 ± 0.06). Eyes large (E/BWE = 0.25 ± 0.03) and dorsal (IOD/BWE = 0.68 ± 0.06) oriented dorsolaterally; Spiracle sinistral, short, positioned lateroventrally and directed posterodorsally, located in the second third of the body and visible dorsally and laterally (RSD/BL = 0.59 ± 0.04); The spiracle is wider in his medial extension and his opening is oval with its diameter approximately three times the nostril diameter and an internal wall merged into the body; Intestine tube circular positioned on the center of the abdomen; Vent tube medial, conical, opening in the left position, attached to the ventral fin and directed posteriorly. Tail is large (TAL/TL = 0.61 ± 0.03), with body slightly higher than the tail or with equal size (MTH/BMH = 0.96 ± 0.07) (Fig. 8A, B), originating on the body-tail junction with a rounded tip at the end of the tail. Tail musculature developed, gradually tapering towards the tail tip, not reaching the tail end (Fig. 1B), with myomeres more pronounced in the distal 2/3 of the tail; *vena caudalis lateralis* visible in anterior portion of musculature in some specimens. Dorsal fin medium height (DFH/MTH = 0.40 ± 0.02), with maximum height to about midlength of tail, slightly convex curved margins and higher than the ventral one (DFH/VFH = 1.39 ± 0.08), that is less convex; medium-sized ventral fin, with approximately 25% of size of dorsal fin, originating attached to the ventral tube. Oral disc anteroventral (Fig. 8 D) of medium size (OD/BL = 0.3 ± 0.04), with lateral emargination.

Position Figure 8

Marginal papillae are arranged in a single row on the dorsal gap and angular region, turning bisseriated (sometimes trisseriated) in subangular and ventral region. Marginal papillae absent dorsally ($DG/OD = 0.67 \pm 0.08$); Papillae are simple, longer than wide, with a subconical shape with a pointed tip in the dorsal and angular regions and conical to subconical with a round tip in the ventral region of the oral disc (Fig. 8D); submarginal papillae absent. The most common dental formula was 2(2)/3(1), with four individuals 2/3 and only one with 2(2)/3(1,2). Jaw sheaths keratinized and serrated; upper jaw sheath arch-shaped with a med-sized lateral process and lower jaw sheath in a "V" shape, both finely serrated (Fig. 8D) and strongly pigmented; Labial teeth arranged in two anterior (A1 and A2) and three posterior tooth rows (P1, P2, and P3); rows of different sizes (A1= A2; P1 > P2 > P3 and A2 = P1. The oral disc corresponds to configuration C3 (*sensu* Candioti et al. 2011) related to labial tooth row formula general 2/3 and dorsal gap on marginal papillae. In life (Fig. 8C), dorsal and lateral view of the body grey to dark brownish coloration; abdominal region in lateral view stained with shiny bronze-colored melanophores; Iris black speckled with golden dots; pupil ring narrow, golden. Spiracle translucent and nostril not pigmented. In dorsal profile, a mottled zone stained with light brown melanophores is perceptible from the internarial region through anterior portion of the interorbital region ending at midlength of the body, with the remaining dark brown until de junction with tail musculature of the body. Transparent fins with finely reticulated dark brown dots, some aggregated in filiform shape, but sparse more pronounced in its first half of the dorsal fin; Dorsal fin more pigmented than ventral fin. Tail musculature presents pale cream to whitish background coloration with finely reticulated dark brown in the first half, and an interrupted longitudinal stripe in the dorsal portion of the musculature and less reticulate pattern in the second half, up to the end of the fin. Venter dark brown with scattered golden melanophores; branchial region reddish cream with some golden melanophores and gular region whitish with reticulate spots around the oral disc. In preserved specimens (Fig 8A, B), body color and tail musculature become faded and are lost, adopting light grey color; fins lose their reticulate pattern with myomeres more visible along fin musculature.

Position Table 2

Advertisement call. The characterization was based on 11 calls recorded from the holotype (MCN 14400). Descriptive statistics are presented as range (mean \pm SD). The call consists of a single pulsed note always emitted once per minute (Fig. 9, 10A). Note duration is 589 to 697 (675.7 ± 32.8) ms, and rise time corresponds to 9 to 14 (12.4 ± 1.4) % of the note, which coincides with the first pulse. Notes are formed by 11 to 13 (12.0 ± 0.5) incomplete pulses (deep amplitude modulations without silent intervals among them) or, rarely, separated by brief intervals (< 5 ms), especially in the last third of the note. The first pulse contains the highest sound energy in the note and is much longer than the other pulses. The last pulse is also longer than the remaining pulses along the note. The first pulse varies from 90 to 123 (112.1 ± 8.6) ms, the last pulse from 46 to 114 (92.4 ± 23.2) ms, and the remaining pulses along the note from 37 to 52 (45.6 ± 1.3) ms. The note has a dominant frequency range from 969 to 1055 (1012.1 ± 33.4) Hz, which is contained within the fundamental harmonic. The note frequency modulation is downward, always decreasing 431 Hz among the 11 analyzed notes.

Position Figure 9

Position Figure 10

Natural history and reproduction. *Physalaemus* **sp. nov.** uses a particular calling and breeding habitat in the Atlantic Forest: flooded forests called swamp forest or *Mata Paludosa* deposited on an alluvial plain (“lagoon terraces”). The *Mata Paludosa* is flooded forest environment that has a water regime associated with areas of coastal lagoons, extensive wetlands and associated environments, being seasonally flooded and directly regulated by the rainfall regime and possibly drying up in annual periods of low rainfall precipitation or droughts. It is characterized by canopy of 15 m high in poorly drained soils with very dense litter and abundant epiphytic vegetation, in addition to the presence of several species in the tree stratum [figueira (*Ficus* sp.), palm trees (*Syagrus*

romanzoffiana), palm heart (*Euterpe edulis*), fishtail (*Geonoma gamiova*), guaricana (*Geonoma schottiana*), tucum (*Bactris setosa*)], in addition to of other representative species of Moraceae, Malpighiaceae, Cecropiaceae, Aquifoliaceae, Meliaceae, Myrtaceae e Euphorbiaceae (PORTO ALEGRE, 2006). The *Mata Paludosa* forest is included in the category of “Floresta Atlântica de Terras Baixas” (Dobrovolski, 2006; PORTO ALEGRE, 2006), but other authors considered this ecosystem to be associated with areas with marine-influenced vegetation linked to herbaceous and arboreal coastal sandbanks (*restinga*) (Kurtz *et al.* 2015).

Our observations indicated that *Physalaemus sp. nov.* breeds throughout most of the year (except in February, April, and May) at the border and inside the forest, which is prone to flooding. The egg foam nests are deposited amidst leaf litter vegetation (reproductive mode 28 *sensu* Haddad & Prado, 2005); these spawns are well hidden under trunks and dead leaves in contact with water below, being difficult to find and observe. Additionally, the following types of deposition of foam nests were also observed: 1) foam nests deposited on the ground, in a pasture environment under herbaceous vegetation of 60–80 cm high, in an open area expected to be flooded (Três Cachoeiras municipality; MDF, personal observation; 2007)(mode 11 *sensu* Haddad & Prado, 2005); 2) foam nest deposited on the edge of a forest, amidst leaves of umbelliferous vegetation (mode 14 *sensu* Haddad & Prado, 2005) (Dom Pedro de Alcântara municipality, type locality; E. Commiti, personal observation; 2006). During reproductive events, adult males of *P. sp. nov.* vocalize inside de forest hidden in the leaf litter. Their vocalization is soft, being difficult to hear and locate. At the type locality, *Chiasmocleis leucosticta* is syntopic with *P. sp. nov.* (Freire *et al.* 2016).

Geographic distribution. *Physalaemus sp. nov.* is currently known from eight localities in areas of Atlantic Forest in southern Brazil: from the municipality of Osório, northeast of Rio Grande do Sul state, to the municipality of Balneário Gaivota, south of Santa Catarina state. These areas comprise the Atlantic Coast Restinga and Floresta Atlântica da Serra do Mar ecoregions (Olson *et al.* 2001), covering a narrow strip of approximately 120 km of Atlantic Forest in southern Brazil (Fig.11).

Position Figure 11

Conservation. *Physalaemus* **sp. nov.** is currently known to occur exclusively in swamp forest environments (*Mata Paludosa*), being endemic to this particular habitat in the Atlantic Forest of southern Brazil (Fig.11). The species is distributed in eight municipalities across its distribution range, with nine subpopulations currently recognized: 1) Dom Pedro de Alcântara - type locality (Variante da Gruta, BR-101), 2) Torres (Parque Estadual de Itapeva, 3) Torres (Lagoa do Jacaré) 4) Três Cachoeiras, 5) Osório (Pontal dos Diehl), 6) Osório (Lagoa do Caconde), 7) Terra de Areia (near the river Cornélios), 8) Capão da Canoa and two in Santa Catarina state, 9) Arroio do Silva and 10) Balneário Gaivota.

The conservation assessment of the new species indicates an extension of occurrence (EEO) range area of 189 km² (B1) and its area of occupancy (AOO) based on known occurrence records is 24 km² (B2). Throughout its range (EEO; 189 km²) the subpopulations are severely fragmented (a) and locations (except the Parque Estadual de Itapeva, Torres, Rio Grande do Sul), where the species is known to be under continued decline (b) in the extent of occurrence (i), occupation area (ii), and habitat quality (iii). Among the known threats or conservation problems for the species, we highlight the loss of habitat, and fragmentation and suppression of native vegetation, silting up of water bodies, expansion of rice cultivation and extensive livestock, construction of residential condominiums, expansion and construction of highways.

These threats directly and indirectly impact the identified subpopulations of *P. sp. nov.* and the particular habitat used by the species. In the specific case of the subpopulation at the type locality (Dom Pedro de Alcântara), the new route of the road referenced to the duplication of the BR-101 road integrated since 2008 has fragmented the small fragment of *Mata Paludosa* native vegetation (approximately 2 ha), now crossed by the road. This impact persists with the deleterious effects of car hit in individuals during the breeding season. None of these subpopulations has an evaluation regarding population and environment parameters or trends. Thus, based on the current knowledge of the new species, we propose that *P. sp. nov.* should be included in the Endangered category - EN-B1ab (i,ii,iii); B2ab(iii).

The management and conservation actions linked to Itapeva State Park (Torres, Rio Grande do Sul) are necessary to continue protecting the forest habitat of the new species

and also to include the new species in its management plan, as this State Park is the only one location where the new species is currently protected. Considering the extinction risks and conservation assessment of *P. sp. nov.*, the species must be included in the next assessment of the conservation status of amphibian species of Rio Grande do Sul and Santa Catarina state, southern Brazil.

Discussion

The story behind the discovery of *Physalaemus sp. nov.* dates back to 1976, when the researcher Pedro Canísio Braun (at that time, curator of MCN-FZB, Brazil) and collaborators recorded for the first time the new species in a typical *Mata Paludosa* environment. Specimens were collected from Lagoa do Jacaré, municipality of Torres, Rio Grande do Sul; see section Species descriptions for additional collection data). On that occasion, was identified by Braun as *P. aff. riograndensis*, as reported later in a review of the MCN-FZB amphibian collection (C. Zank, year 2010; personal commun.). The name *P. aff. riograndensis* was applied to that *Mata Paludosa* population probably because of the morphological similarity between *P. sp. nov.* and *P. riograndensis*.

Our morphological analysis of *Physalaemus* support Braun's observations. Both species have males with similar size, dorsum with tubercles, a similar pattern of dorsal coloration, and the absence of shovel-shaped metatarsal tubercle (Barrio, 1965; Nascimento *et al.* 2005; present study). Therefore, *P. sp. nov.* is most similar morphologically to the distantly related *P. riograndensis* (member of the *P. biligonigerus* group) than the two other species of its own species' group (*P. henselii* group).

However, there is clear ecological partitioning between these two species regarding their calling and breeding habitats. *Physalaemus riograndensis* uses open areas (Milstaed, 1960; Cei, 1980; Pereira *et al.* 2015), such as the typical Pampa grasslands and also rice paddy fields, whereas *P. sp. nov.* is restricted to swamp forests (*Mata Paludosa*). Even though the sympatric occurrence of the two species was confirmed in some localities (*e.g.*, municipality of Torres, MCN 13817, 13819), the syntopic occurrence of these two species have never been observed (MDF, personal observation).

Furthermore, their advertisement calls readily distinguish the two species. *Physalaemus riograndensis* is a whine-call species, consisting of a single nonpulsed note (Fig. 10D). On the other hand, *P. sp. nov.* has consists of a single note formed by incomplete pulses (Fig. 9, 10A).

Physalaemus henselii and *P. fernandezae* are sister species that have a conservative morphology of adults (Barrio, 1965; Nascimento et al. 2005; Barrasso, 2014; Lourenço et al. 2015) and tadpoles (Alcade et al. 2006; Borteiro & Kolenc, 2007; Candiotti et al. 2011). These species also share calling and breeding habitat, being unique within *Physalaemus* as winter breeders (Barrio, 1965; Langone, 1995; Lobo, 1996; Maneyro et al. 2008). However, these species diverge much in their calls (Barrio, 1964; Barrio, 1965; Maneyro et al. 2008). The call of *P. henselii* consists of a note with complete pulsing and without a marked frequency modulation or a rich harmonic series (as observed in whine calls) (Fig. 10B), whereas the call of *P. fernandezae* consists of a tonal (narrow bandwidth), note with incomplete pulsing and upward frequency modulation, resembling a whistle to the human ear (Barrio, 1965) (Fig. 10C). *Physalaemus sp. nov.* is acoustically distinguished from both *P. henselii* and *P. fernandezae* by having note with incomplete pulsing, a downward frequency modulation and a clear harmonic series.

Because of the morphological similarity between *P. henselii* and *P. fernandezae*, many characters shared by both species, such as small SVL, dorsum with longitudinal glandular crests, imperceptible tympanum, and granular dorsal skin (Barrio, 1965; Nascimento et al. 2005). Additionally, the characterization of the inguinal region and hidden parts of the thigh by Ferraro et al. (2020) indicate that both species share the absence of glandular tissue/macrogland in the inguinal region, whose coloration is similar to the surrounding skin. *Physalaemus sp. nov.* also has most of the characters of the *P. henselii* species group mentioned above, except the presence of longitudinal glandular crests in the dorsum. On the other hand, *P. sp. nov.* exhibits characters that are unique in the *P. henselii* group, such as the presence of an omega-shaped glandular mark, the absence of a pale stripe from the snout tip to the arm insertion, a rounded snout in lateral view, and ventral coloration with pale spots on a reddish-brown background (see Comparisons with congeners and Fig 2, 4, 7, and Appendix 5).

With respect to the morphology of tadpoles in the *P. henselii* group, some characters are informative for the recognition and differentiation of the three species. Some of them are the tadpole average size at similar stages and distinct buccal formula configurations. At stages 31–38 (sensu Gosner, 1960), tadpoles of *P. sp. nov.* reach the average size of 18 mm. Those of *P. henselii* (26.8 mm; Borteiro & Kolenc, 2007) and *P. fernandezae* (25.2 mm; Alcade *et al.* 2006) are remarkably larger than those of *P. sp. nov.*. This size pattern is expected for tadpoles of open-habitat species, such as *P. cuvieri* (23.5 mm; Rosa-Ferez & Nomura, 2006) and *P. biligonigerus* (23.6 mm; Borteiro & Kolenc, 2008) relative to forest-dwelling species, such as *P. angrensis* (15.7 mm; Ruggeri *et al.* 2012), *P. camacan* (16 mm; Pimenta *et al.* 2005), and *P. signifer* (16 mm; Weber & Carvalho-e-Silva, 2001). The difference might also be related to the time of differential development at early stages of the larvae, combined with different reproductive modes (mode 11, 14, and/or 28; Oliveira *et al.* 2022).

Regarding the buccal formula configuration, the tadpole of *P. sp. nov.* is distinguished from those of the two other species of *P. henselii* group by having an oral disc with a 2(2)/3(1) buccal formula configuration associated with a dorsal gap (C3; sensu Candioti *et al.* 2011). In *P. fernandezae* and *P. henselii*, the buccal formula configuration is 2/3, with reduced P3, and dorsal and ventral gaps (C5; sensu Candioti *et al.* 2011; Alcade *et al.* 2006; Kolenc *et al.* 2011). The C3 configuration is considered a morphological character present in most leiuperine frogs, which represents their plesiomorphic condition (Lourenço *et al.* 2015). This configuration is present in all species of the *P. signifer* clade, and all species of the *P. olfersii* group, which is associated with the vast majority of forest species within the genus (Candioti *et al.* 2011; Lourenço *et al.* 2015; Nascimento *et al.* 2021). Thus, we can link the C3 buccal formula of *P. sp. nov.* tadpoles to the convergent evolution of forest habitat use within *Physalaemus*.

The present study reveals that *Physalaemus sp. nov.* is the first species of the *P. henselii* group associated exclusively with the Atlantic Forest and forest habitats, whereas the other two species of the group (*P. henselii* and *P. fernandezae*) use open areas in temperate regions in the Pampa grasslands in Uruguay and Argentina, and Brazil in the case of *P. henselii* (Barrio, 1964; Nascimento *et al.* 2005; Lourenço *et al.* 2015). Another relevant aspect concerns the reproductive period of *P. sp. nov.*, which displays an annual pattern of activity and prolonged reproduction, with vocalizations recorded over several months of the year and deposition of egg foam nests throughout most of the year.

Physalaemus henselii and *P. fernandezae*, on the other hand, are unique in being winter breeders, with their reproductive periods associated with the coldest months of the year, even though reproduction of these species has been reported in other seasons (an annual pattern in *P. henselii* fall–winter and a bimodal pattern in *P. fernandezae* during winter–spring and summer–fall; Barrio 1964, 1965; Maneyro *et al.* 2008; Marangoni *et al.* 2012). In general, the predominant reproductive pattern of *Physalaemus* species is associated with a single annual period during the rainy season (end of spring and throughout most of the summer; Bokermann, 1962; Barreto & Andrade, 1995; Brasileiro & Martins, 2006).

Among known forest-dwelling species of *Physalaemus*, only *P. crombiei* exhibits an annual activity and prolonged reproductive pattern (Pupin *et al.* 2010). Forest-dwelling species of *Physalaemus* typically breed only during the rainy season (e.g., *P. atlanticus*, *P. spiniger*; Haddad & Sazima, 2004; Haddad & Pombal, 1998) or in short periods within the rainy season (*P. erythros*; Baêta *et al.* 2007b). As described by Pupin *et al.* 2010 for *P. crombiei*, and could also apply to *P. sp. nov.*, the adoption of a prolonged reproduction strategy may be associated with greater stability and availability of water bodies inside the forest, combined with the obvious advantage of avoiding competition in the period with the greater abundance of species and individuals breeding during the rainy season (Haddad & Prado, 2005). Another important aspect would be the advantage of behavioral plasticity by the adoption of different egg-laying microhabitats by prolonged breeders in adverse environmental conditions (Haddad & Prado, 2005; Nunes-de-Almeida *et al.* 2021), what can increase their reproductive success. In *P. sp. nov.*, we observed three reproduction modes (11, 14, and 28; *sensu* Haddad & Prado, 2005). This feature has been reported for many species of the *P. signifer* clade that spawn using reproductive modes 11 and 28 (*P. bokermanni*, Haddad & Pombal, 1998; *P. nanus*, Haddad *et al.* 2013; and *P. signifer*, Wogel *et al.* 2002;), modes 11 and 14 (*P. caete*, Pombal & Madureira, 1997; *P. erythros*, Baêta *et al.* 2007b), modes 11, 14, and 28 (*P. atlanticus*, Haddad & Sazima, 2004; *P. crombiei*, Pupin *et al.* 2010; *P. spiniger*, Haddad & Pombal, 1998)—the latter case as described for *P. sp. nov.*

Atlantic Forest environments including the swamp forest (*Mata Paludosa*) in northeastern Rio Grande do Sul and southern Santa Catarina have suffered high levels of historical conversion, fragmentation and degradation of their original cover areas, as many other cases that have been documented across the Atlantic Forest. This is mainly caused by

large-scale logging over the last two centuries, followed by the expansion of crop cultivation (rice paddy fields and banana plantations), livestock grazing, and urban expansion (e.g., Fonseca 1995; Tabareli *et al.* 1999; Cullen *et al.* 2000; Myers *et al.* 2000; Brack, 2009; Rezende *et al.* 2018). These threats probably affected and still affect local populations of *P. sp. nov.*, indicating that the management of the remnants of the *Mata Paludosa* forest should be an important target for conservation, in order to promote long-term conservation of suitable areas for this newly described *Physalaemus* species.

Acknowledgements

We thank Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for financial support to MDF. To the Centro de Estudos de Insetos Sociais (CEIS, UNESP/Rio Claro) and M. L. Lyra for providing workspace and help with DNA sequencing protocols; Fonoteca Zoológica (MNCN-CSIC, Madrid), CFBH acoustic collection (CFBH-voc), and D. Barrasso for enabling access to sound recordings of *Physalaemus*. We thank R. Ott for their valuable technical support in the photographs of tadpoles and M. Cremer and S. da S. Dornelles for the support to study this species since the beginning. T.R. Carvalho received postdoctoral fellowships from FAPESP (process #2017/08489-0) and Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq process #163918/2020-1).

References

- ALCALDE, L., G. S. NATALE, AND R. CAJADE. (2006). The tadpole of *Physalaemus fernandezae* (Anura: Leptodactylidae). *Herpetological Journal*. London 16: 203–211.
- ALTIG, R. & MCDIARMID, R.W. (1999). Body Plan. Development and Morphology. In: McDiarmid, R.W. & Altig, R. (Eds.), *Tadpoles: The Biology of Anuran Larvae*. The University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA, pp. 24 – 51
- AUDACITY TEAM. (2011). *Audacity* (version 1.3.13 Beta): Free Audio Editor and Recorder. Available from: <http://audacity.sourceforge.net> (Accessed on 21 Jul 2013).
- BAËTA, D., LOURENÇO, A.C.C., PEZZUTI, T.L. & PIRES, M.R.S. (2007A). The tadpole, advertisement call, and geographic distribution of *Physalaemus maximus* Feio, Pombal & Caramaschi, 1999. *Arquivos do Museu Nacional*, Rio de Janeiro, 65(1): 27–32.

- BAËTA, D., A. C. C. LOURENÇO, AND L. B. NASCIMENTO. (2007B). Tadpole and advertisement call of *Physalaemus erythros* Caramaschi, Feio & Guimarães-Neto, 2003 (Amphibia, Anura, Leiuperidae). *Zootaxa* 1623: 39–46.
- BARRASSO, D. A. (2014). Estructura poblacional y filogeografía de *Physalaemus fernandezae* y *P. henselii* (Amphibia: Anura).
- BARRETO, L., & ANDRADE, G. V. (1995). Aspects of the reproductive biology of *Physalaemus cuvieri* (Anura: Leptodactylidae) in northeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 16(1), 67-76.
- BARRIO, A. (1964). Relaciones morfológicas, eto-ecológicas y zoogeográficas entre *Physalaemus henseli* (Peters) y *P. fernandezae* (Müller) (Anura, Leptodactylidae). *Acta Zool. Lilloa*.20, 284–305.
- BARRIO, A. (1965). El genero *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) en la Argentina. *Physis*, 25(70):421-448.
- BARRIO, A. (1967). Notas complementarias sobre el Genero *Physalaemus* Fitzinger (Anura: Leptodactylidae). *Physis*, 74, 5-8.
- BARRIO-AMORÓS, C. L., ROJAS-RUNJAIC, F. J. M., & SEÑARIS, J. C. (2019). Catalogue of the amphibians of Venezuela: illustrated and annotated species list, distribution, and conservation. **Amphibian & Reptile Conservation**, 13(1), 1-198.
- BOKERMANN W. C. A. (1962). Observações biológicas sobre *Physalaemus cuvieri* Fitz, 1826 (Amphibia, Salientia). *Revista Brasileira de Zoologia* 22: 391–399.
- BOKERMANN, W. C. A. (1962A). Sôbre uma pequena coleção de anfíbios do Brasil Central, com de descrição de una especie nova de *Physalaemus* (Amphibia, Salientia). *Revista Brasileira de Biologia* 22: 213–219.
- BOKERMANN, W. C. A. (1966A). Notas sôbre três espécies de *Physalaemus* de Maracas, Bahia (Amphibia, Leptodactylidae). *Revista Brasileira de Biologia* 26: 253–259.
- BOKERMANN, W. C. A. (1966B). Dos nuevas especies de *Physalameus* de Espirito Santo, Brasil (Amphibia, Leptodactylidae). **Physis**. Buenos Aires 26: 193–202.
- BOKERMANN, W. C. A. (1967). Três novas espécies de *Physalaemus* do sudeste brasileiro (Amphibia, Leptodactylidae). **Revista Brasileira de Biologia** 27: 135–143.
- BORTEIRO, C., AND F. KOLENC. (2007). Redescription of the tadpoles of three species of frogs from Uruguay (Amphibia: Anura: Leiuperidae and Leptodactylidae), with notes on natural history. **Zootaxa** 1638: 1–20.
- BOTH, C., KWET, A., & SOLÉ, M. (2006). The tadpole of *Physalaemus lisei* Braun & Braun, 1977 (Anura, Leptodactylidae) from southern Brazil. **Alytes**, 24(1-4), 109.
- BRASILEIRO, C. A., & MARTINS, M. (2006). Breeding biology of *Physalaemus centralis* Bokermann, (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Brazil. **Journal of Natural History**, 40(17-18), 1199-1209.

- BRASILEIRO, C. A., AND C. F. B. HADDAD. (2015). A new species of *Physalaemus* from central Brazil (Anura: Leptodactylidae). **Herpetologica** **71**: 280–288
- BRACK, P., (2009). Vegetação e paisagem do Litoral Norte do Rio Grande do Sul: exuberância, raridade e ameaças à biodiversidade. **Ecosistemas e biodiversidade do Litoral Norte do RS. Porto Alegre, Nova Prova**, 32-55.
- BRAUN, P. C., AND C. A. S. BRAUN. (1977). Nova espécie de *Physalaemus* do estado do Rio Grande do Sul, Brasil (Anura, Leptodactylidae). **Revista Brasileira de Biologia** **37**: 867–871.
- BRUFORD, M.W., O. HANOTTE, J.F.Y. BROOKFIELD, & T. BURKE. (1992). Single and multilocus DNA fingerprinting. Pp. 225–269 in: **Molecular Genetic Analysis of Populations: A Practical Approach** (A.R. Hoelzel, ed.). I.R.L. Press, UK.
- CANDIOTI, M. F., HAAD, M. B., BALDO, J. D., KOLENC, F., BORTEIRO, C., & ALTIG, R. (2011). Different pathways are involved in the early development of the transient oral apparatus in anuran tadpoles (Anura: Leiuperidae). **Biological Journal of Linnean Society**, **2011**, 104, 330-345.
- CARDOSO A. J. (1981) Biologia e sobrevivência de *Physalaemus cuvieri* Fitzinger, 1826 (Amphibia, Anura), na natureza. **Ciência e Cultura** **33**: 1224–1228.
- CARDOZO, D. E., & PEREYRA, M. O., (2018). A new species of *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic Forest of Misiones, northeastern Argentina. **Zootaxa** **4387** (3): 580–590
- CARVALHO, T. R., GIARETTA, A. A., ANGULO, A., HADDAD, C. F. B. & PELOSO, P. L. V. (2019). A new Amazonian species of *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) from the Brazilian state of Pará: a tody-tyrant voice in a frog. **American Museum Novitates** **3919**: 1–21.
- CASSINI, C. S., C. A. G. CRUZ, AND U. CARAMASCHI. (2010). Taxonomic review of *Physalaemus olfersii* (Lichtenstein & Martens, 1856) with revalidation of *Physalaemus lateristriga* (Steindachner, 1864) and description of two new related species (Anura: Leiuperidae). **Zootaxa** **2491**: 1–33.
- CEI, J. M. (1980). Amphibians of Argentina. **Monitore Zoologico Italiano. Nuova Serie, Monographia. Firenze** **2**: ixii + 609.
- CHIARI, Y., VENCES, M., VIEITES, D.R., RABEMANANJARA, F., BORA, P., RAMILJAONARAVOAHANGIMALALA, O. & MEYER, A. (2004) New evidence for parallel evolution of colour patterns in Malagasy poison frogs (*Mantella*). **Molecular Ecology**, **13**: 3763–3774.
- CULLEN, JR. L., BODMER, R. E., AND PADUA, C. V. (2000). Effects of hunting in habitat fragments of the Atlantic forests, Brazil. **Biological Conservation** **95**: 49–56.

- DOBROVOLSKI, R. (2006). A paisagem do Parque Estadual de Itapeva, RS, e seu entorno: padrões, processos e fatores direcionadores. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul.
- DUELLMAN, W.E. (1970). Hylid frogs of Middle America. **Monographs of the Museum of Natural History, University of Kansas 1–2**: 1–753.
- DUELLMAN, W. E. (1997). Amphibians of La Escalera region, southeastern Venezuela: taxonomy, ecology and biogeography. Natural History Museum, **The University of Kansas, Scientific Papers, 2**:1-52.
- FAIVOVICH, J., HADDAD, C. F., GARCIA, P. C., FROST, D. R., CAMPBELL, J. A., & WHEELER, W. C. (2005). Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. **Bulletin of the American Museum of natural History, 2005**(294), 1-240.
- Feller A.E. & Hedges S.B. 1998. Molecular evidence for the early history of living amphibians. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 9: 509–516.
- FERRARI, L., & VAIRA, M. (2001). Advertisement call and breeding activity of *Physalaemus cuqui* (Lobo, 1993). **Herpetological Bulletin, 77**, 20-22.
- FERRARO, D. P., PEREYRA, M. O., TOPA, P. E., & FAIVOVICH, J. (2021). Evolution of macroglands and defensive mechanisms in Leiuperinae (Anura: Leptodactylidae). **Zoological Journal of the Linnean Society, 193**(2), 388-412.
- FONSECA, G.A.B., (1985). The vanishing Brazilian Atlantic Forest. *Biol. Conserv.* **34**, 17–34
- FREIRE, M. D., COLOMBO, P., ZANK, C., & MODKOWSKI, S. P. (2016). Southermost records of the anurans, *Chiasmocleis leucosticta* (Boulenger, 1888) (Microhylidae) and *Dendropsophus werneri* (Cochran, 1952) (Hylidae), in the Atlantic Forest, Brazil. **Herpetology Notes, 9**, 149-155.
- FROST D.R. (2023). **Amphibian species of the World**: an Online Reference. Version 6.1 (accessed in January 2023). Accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia>
- GELMAN A. & RUBIN D.B. (1992). Inference from iterative simulation using multiple sequences. **Statistical Sciences** 7: 457–472.
- GIARETTA, A. A., & MENIN, M. (2004). Reproduction, phenology and mortality sources of a species of *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae). **Journal of Natural History, 38**(13), 1711-1722.
- GIARETTA, A.A., MARTINS, L. & SANTOS, M.P. (2009) Further notes on the taxonomy of four species of *Physalaemus* (Anura, Leiuperidae) from the Atlantic Forest of southeastern Brazil. **Zootaxa, 2266**: 51–60.

- GOMES, F. B. R., PROVETE, D. B., & MARTINS, I. A. (2010). The tadpole of *Physalaemus jordanensis* Bokermann, 1967 (anura, leiuperidae) from Campos do Jordão, Serra da Mantiqueira, Southeastern Brazil. **Zootaxa**, **2327**(1), 65-68.
- GOSNER KL. 1960. A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. **Herpetologica** **16**: 183–190.
- GRIDI-PAPP, M. (2007) **SoundRuler**: acoustic analysis for research and teaching. Available from: <http://soundruler.sourceforge.net> (accessed 10 November 2022).
- GROSJEAN, S. (2005). The choice of external morphological characters and developmental stages for tadpole-based anuran taxonomy: a case study in *Rana (Sylvirana) nigrovittata* (Blyth, 1855) (Amphibia, Anura, Ranidae). **Contributions to Zoology** **74**: 61-76.
- GUERRA, V., DE MORAIS, A. R., GAMBALE, P. G., ODA, F. H., & PEREIRA BASTOS, R. (2017). Variation of the advertisement call of *Physalaemus centralis* Bokermann, 1962 (Anura: Leptodactylidae) in the Cerrado of central Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, **52**(2), 103-111.
- HADDAD, C. F., & POMBAL JR, J. P., (1998). Redescription of *Physalaemus spiniger* (Anura: Leptodactylidae) and description of two new reproductive modes. *Journal of Herpetology*, 557-565.
- HADDAD, C.F.B. & PRADO, C.P.A. (2005). Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. **BioScience**, **55**(3):207-217.
- HADDAD, C. F., & SAZIMA, I., (2004). A new species of *Physalaemus* (Amphibia; Leptodactylidae) from the Atlantic Forest in southeastern Brazil. **Zootaxa**, **479**(1), 1-12.
- HADDAD, C.F.B., L.F. TOLEDO, C.P.A. PRADO, D. LOEBMANN, J.L. GASPARINI & I. SAZIMA., 2013. **Guia dos anfíbios da Mata Atlântica – diversidade e biologia**. São Paulo: Anolis Books, 542 pp.
- Hedges S.B. 1994. Molecular evidence for the origin of birds. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **91**: 2621–2624.
- HEPP, F. & POMBAL, J.P., 2020. Review of bioacoustical traits in the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae). **Zootaxa**, **4725**, 1– 106.
- HEYER, W. R., RAND, A. S., DA CRUZ, C. A. G., PEIXOTO, O. L., & NELSON, C. E. (1990). frogs of Boracéia. **Arquivos de Zoologia**, **31**(4), 231-410.
- HÖDL, W. (1990). An analysis of foam nest construction in the Neotropical frog *Physalaemus ephippifer* (Leptodactylidae). **Copeia**, 547-554.
- HURVICH C. & TSAI, C. (1989). Regression and time series model selection in small samples. **Biometrika** **76**: 297–307.
- KAEFER, I. L., ERDTMANN, L. K., & LIMA, A. P. (2011). The advertisement call of *Physalaemus ephippifer* (Anura: Leiuperidae) from Brazilian Amazonia. **Zootaxa**, **2929**(1), 57-58.

- KATOH K. & STANDLEY D.M. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. **Molecular Biology and Evolution** **30**: 772–780.
- KEARSE, M., MOIR, R., WILSON, A., STONES-HAVAS, S., CHEUNG, M., STURROCK, S., 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.
- KLAPPENBACH, M. A. AND J. A. LANGONE., (1992). Lista sistemática y sinonímica de los anfibios del Uruguay con comentarios y notas sobre su distribución. **Anales del Museo Nacional de Historia Natural (2a Serie)** **8**: 163-222.
- KEHR, A. I., SCHAEFER, E. F., & DURÉ, M. I. (2004). The tadpole of *Physalaemus albonotatus* (Anura: Leptodactylidae). **Journal of Herpetology**, **38**(1), 145-148.
- KOK, P. J. R., & KALAMANDEEN, M. (2008). Introduction to the taxonomy of the Amphibians of Kaieteur National Park, Guyana. **Abc taxa: a series of manuals dedicated to capacity building in taxonomy and collection management, Vol. 5**. Belgian Development Corporation, Brussels, Belgium.
- KOLENC, F., C. BORTEIRO, M. TEDROS, D. NÚÑEZ, AND R. MANEYRO. (2006). The tadpole of *Physalaemus henselii* (Peters) (Anura: Leiuperidae). **Zootaxa** **1360**: 41–50.
- KOLENC, F., BALDO, D., BORTEIRO, C., MARANGONI, F., FERRARO, D. P., & FAIVOVICH, J. (2011). The identity of *Eupemphix fuscomaculatus* Steindachner, 1864 (Amphibia: Anura). **Copeia**, **2011**(4), 513-522.
- KUMAR S., STECHER G., LI M., KNYAZ C. & TAMURA K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. **Molecular Biology and Evolution** **35**: 1547–1549.
- KURTZ, B. C., VALENTIN, J. L., & SCARANO, F. R. (2015). Are the neotropical swamp forests a distinguishable forest type? Patterns from southeast and Southern Brazil. **Edinburgh Journal of Botany**, **72**(2), 191-208.
- LANFEAR, R., CALCOTT, B., HO, S. Y. & GUINDON S. (2012). PartitionFinder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. **Molecular Biology and Evolution** **29** (6): 1695–1701.
- LANFEAR, R., FRANDBEN, P.B., WRIGHT, A.M., SENFELD, T. & CALCOTT B. (2017). PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. **Molecular Biology and Evolution** **34** (3): 772–773.
- LANGONE, J. A. (1989). Descripción de la larva de *Physalaemus gracilis* (Boulenger, 1883)(Amphibia, Anura., Leptodactylidae). **Museo de Hist. Natural**.

- LANGONE, J. A. (1995). Ranas y sapos del Uruguay. Montevideo. *Museu Damaso Antonio Larrañaga n° 5*, Série de Divulgação. 123 p.
- LAVILLA E.O., & SCROCCHI G.J. (1986). Morfometría larval de los géneros de Telmatobiinae (Anura: Leptodactylidae) de Argentina y Chile. *Physis* **44**: 39–43.
- LEAL, F., F. S. F. LEITE, W. DA COSTA, L. B. NASCIMENTO, L. B. LOURENÇO, AND P. C. DE A. GARCIA. (2020). Amphibians from Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil. VI: A new species of the *Physalaemus deimaticus* Group (Anura, Leptodactylidae). *Zootaxa* **4766**: 306–330
- LEAL, F., C. ZORNOSA-TORRES, G. AUGUSTO-ALVES, S. DENA, T. L. PEZZUTI, F. S. F. LEITE, L. B. LOURENÇO, P. C. DE A. GARCIA, AND L. F. TOLEDO. (2021). Head in the clouds: A new dwarf frog species of the *Physalaemus signifer* clade (Leptodactylidae, Leiuperinae) from the top of the Brazilian Atlantic Forest. *European Journal of Taxonomy* **764**: 119–151
- LIGGES, U., KREY, S., MERSMANN, O. & SCHNACKENBERG, S. (2017) **tuneR: analysis of music and speech**. Available from: <https://CRAN.R-project.org/package=tuneR> (accessed 10 October 2022).
- LOBO, F. (1993). Descripción de una nueva especie del género *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae) del Noroeste Argentino. *Rev. Esp. Herp.* **7**, 13-20.
- LOBO, F. (1996). Nuevas observaciones sobre la osteología del género *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae). *Acta Zoologica Lilloana*, **43**, 317-326
- LOURENÇO, L.B.; TARGUETA, C.P.; BALDO, D.; NASCIMENTO, J.; GARCIA, P. C.A.; ANDRADE, G.V.; HADDAD, C.F.B. & RECCO-PIMENTEL, S.M., (2015). Phylogeny of frogs from the genus *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) inferred from mitochondrial and nuclear gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **92** (2015) 204-216.
- LUNA, M. C., MCDIARMID, R. W., & FAIVOVICH, J. (2018). From erotic excrescences to pheromone shots: structure and diversity of nuptial pads in anurans. *Biological Journal of the Linnean Society*, **124**(3), 403-446.
- LYNCH, J. D., & DUELLMAN, W. E. (1997). Frogs of the genus *Eleutherodactylus* (Leptodactylidae) in western Ecuador: systematic, ecology, and biogeography. *Natural History Museum, University of Kansas*.
- Lyra M.L., Haddad C.F.B. & Azeredo-Espin A.M.L. 2017. Meeting the challenge of DNA barcoding Neotropical amphibians: polymerase chain reaction optimization and new COI primers. *Molecular Ecology Resources* **17**: 966–980.
- MANEYRO, R., NÚÑEZ, D., BORTEIRO, C., TEDROS, M., & KOLENC, F. (2008). Advertisement call and female sexual cycle in Uruguayan populations of *Physalaemus henselii* (Anura, Leiuperidae). *Iheringia. Série Zoologia*, **98**, 210-214.
- MANEYRO, R., LANGONE, J. & S. CARREIRA. (2019). Anfíbios. Pp. 17-106. En Carreira, S. & R. Maneyro (eds.). Libro Rojo de los Anfíbios y Reptiles del Uruguay. *Biología y*

conservación de los Anfibios y Reptiles en peligro de extinción a nivel nacional. DINAMA, Montevideo.

MARANGONI, F., BARRASSO, D. A., CAJADE, R., & AGOSTINI, G. (2012). Body size, age and growth pattern of *Physalaemus fernandezae* (Anura: Leiuperidae) of Argentina. **North-Western Journal of Zoology**, **8**(1).

MATLAB (2004). **The language of technical computing.** Version 6.5.2. MathWorks, Inc., Natick. [program]

MILLER M. A., PFEIFFER W. & SCHWARTZ T. (2011). The CIPRES science gateway: a community resource for phylogenetic analyses. In: Proceedings of the 2011 TeraGrid Conference: extreme digital discovery 41: 1–8.

MILSTEAD, W. W. (1960). Frogs of the genus *Physalaemus* in southern Brazil with the description of a new species. **Copeia**, **1960**(2), 83-89.

MORAIS, A. R., & KWET, A. (2012). Description of the advertisement call of *Physalaemus lisei* (Anura: Leiuperidae). **Salamandra**, **48**(4), 227-229.

MÜLLER, L. (1926). Neue Reptilien und Batrachier der zoologischen Sammlung des bayerischen Staates. **Zoologischer Anzeiger** **65**: 193–200.

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

NASCIMENTO, L.B.; CARAMASCHI, U. & CRUZ, C.A.G., (2005). Taxonomic review of the species groups of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 with the revalidation of the genera *Engystomops* Jiménez-De La-Espada, 1872 and *Eupemphix* Steindachner, 1863 (Amphibia Anura, Leptodactylidae) **Arquivos do Museu Nacional** **63** (2): 297-320.

NASCIMENTO, F. A., DE SÁ, R. O., & DE A. GARCIA, P. C. (2021). Tadpole of the Amazonia frog *Edalorhina perezii* (Anura: Leptodactylidae) with description of oral internal and chondrocranial morphology. **Journal of Morphology**, **282**(1), 115-126.

NOMURA, F.; ROSA-FEREZ, D. C. & PRADO, V. H. M. ET AL. (2003). The tadpole of *Physalaemus fuscomaculatus* (Anura: Leptodactylidae), with a description of internal oral morphology1. **Zootaxa**, **370**, 1-8.

NUNES-DE-ALMEIDA, C. H. L., HADDAD, C. F. B., & TOLEDO, L. F. (2021). A revised classification of the amphibian reproductive modes. **Salamandra**, **57**(1), 413-427.

OLIVEIRA, F. F. R., NASCIMENTO, L. B., ETEROVICK, P. C., & SAZIMA, I. (2013). Description of the tadpole and redescription of the advertisement call of *Physalaemus evangelistai* (Anura, Leiuperidae), with notes on its natural history. **Journal of Herpetology**, **47**(4), 539-543.

OLIVEIRA, M. I., GROSSO, J., NAPOLI, M. F., WEBER, L. N., & CANDIOTI, F. V. (2022). Embryonic morphology in two species of the *Physalaemus signifer* clade (Anura: Leptodactylidae). **Herpetological Journal**, **32**(2).

- OLIVEIRA, M. I. R. R., WEBER, L. N., & RUGGERI, J. (2010). The tadpole of *Physalaemus albifrons* (Spix, 1824) (Anura, Leiuperidae). **South American Journal of Herpetology**, **5**(3), 249-254.
- OLSON, D. M., DINERSTEIN, E., WIKRAMANAYAKE, E. D., BURGESS, N. D., POWELL, G. V., UNDERWOOD, E. C., ... & KASSEM, K. R. (2001). Terrestrial Ecoregions of the World: A New Map of Life on Earth A new global map of terrestrial ecoregions provides an innovative tool for conserving biodiversity. **BioScience**, **51**(11), 933-938.
- PALUMBI S.R., MARTIN A.P., KESSING B.D. & MCMILLAN, W.O. (1991). Detecting population structure using mitochondrial DNA. In: Hoelzel A.R. (ed.) **Genetic Ecology of Whales and Dolphins: 271–278**. International Whaling Commission, UK.
- PEREIRA, G., ABADIE, M., & MANEYRO, R. (2015). Reproductive pattern and dynamics of fat bodies in males of a Uruguayan population of *Physalaemus riograndensis* (Anura, Leptodactylidae). **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, **50**(3), 213-220.
- PEROTTI, M. G. AND J. A. CÉSPEDez. (1999). The tadpole of *Physalaemus santafecinus*, with comments on the buccopharyngeal morphology. **Journal of Herpetology**, **33**:312-315
- PEROTTI, M. G. (1997). The tadpole of *Physalaemus cuqui* Lobo, 1993 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). **Amphibia-Reptilia**, **18**(4), 427-432.
- PETERS, W. C. H. (1872). Über die von Spix in Brasilien gesammelten Batrachier des Königl. Naturalienkabinet zu München. **Monatsberichte der Königlich Preussische Akademie des Wissenschaften zu Berlin 1872**: 196–227.
- PEZZUTI, T. L., LEITE, F. S. F., ROSSA-FERES, D. D. C., & GARCIA, P. C. A., (2021). The tadpoles of the Iron Quadrangle, Southeastern Brazil: a baseline for larval knowledge and anuran conservation in a diverse and threatened region. **South American Journal of Herpetology**, **22**(sp1), 1-107.
- PIMENTA, B. V. S., C. A. G. CRUZ, AND D. L. SILVANO. (2005). A new species of *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic Rain Forest of southern Bahia, Brazil. **Amphibia-Reptilia** **26**: 201–210.
- POMBAL, J. P., JR., AND C. A. MADUREIRA. (1997). A new species of *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic rain forest of northeastern Brazil. **Alytes** **15**: 105–112.
- PORTO ALEGRE. (2006). Secretaria Estadual do Meio Ambiente do Rio Grande do Sul – SEMA. **Plano de manejo do Parque Estadual de Itapeva**. Porto Alegre: 2006. 259 p.
- PROVETE, D. B., M. V. GAREY, L. F. TOLEDO, J. NASCIMENTO, L. B. LOURENÇO, D. DE C. ROSSA-FERES, AND C. F. B. HADDAD. (2012). Resdescription of *Physalaemus barrioi* (Anura: Leiuperidae). **Copeia** **2012**: 507–518.
- PUPIN, N. C., GASPARINI, J. L., BASTOS, R. P., HADDAD, C. F., & PRADO, C. (2010). Reproductive biology of an endemic *Physalaemus* of the Brazilian Atlantic Forest, and the trade-off between clutch and egg size in terrestrial breeders of the *P. signifer* group. **The Herpetological Journal**, **20**(3), 147-156.

- R CORE TEAM (2021). **R: a language and environment for statistical computing, version 3.5.0**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Available from <http://www.r-project.org> (accessed 10 November 2022)
- REZENDE, C. L., SCARANO, F. R., ASSAD, E. D., JOLY, C. A., METZGER, J. P., STRASSBURG, B. B. N., ... & MITTERMEIER, R. A. (2018). From hotspot to hopespot: An opportunity for the Brazilian Atlantic Forest. **Perspectives in ecology and conservation**, **16**(4), 208-214.
- 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** (3): 539–542.
- ROSSA-FERES, D. D. C., & JIM, J. (1993). Tadpole of *Physalaemus centralis* (Anura, Leptodactylidae). **Copeia**, 566-569.
- ROSSA-FERES, D. D. C., & NOMURA, F. (2006). Characterization and taxonomic key for tadpoles (Amphibia: Anura) from the northwestern region of São Paulo State, Brazil. **Biota Neotropica**, **6**.
- ROSSA-FERES, D. D. C., GAREY, M. V., CARAMASCHI, U., NAPOLI, M. F., NOMURA, F., BISPO, A. A., ... & CONTE, C. E. (2017). Anfíbios da Mata Atlântica: lista de espécies, histórico dos estudos, biologia e conservação. **Revisões em Zoologia: Mata Atlântica**, **1**, 237-314.
- RUGGERI, J., & WEBER, L. N. (2012). A survey of the internal oral features and external morphology of *Physalaemus* larvae (Anura, Leptodactylidae). **Zootaxa**, **3200**(1), 1-26.
- SUEUR, J., AUBIN, T. & SIMONIS, C. (2008). Seewave: a free modular tool for sound analysis and synthesis. **Bioacoustics**, **18**, 213–226.
- TABARELLI, M., MANTOVANI, W., AND PERES, C. A. (1999). Effects of habitat fragmentation on plant guild structure in the montane Atlantic Forest of southeastern Brazil. **Biological Conservation** **91**: 119–127.
- TÁRANO, Z. (2001). Variation in male advertisement calls in the neotropical frog *Physalaemus enesefae*. **Copeia**, **2001**, 1064–1072
- VAIDYA G., LOHMAN D.J. & MEIER R. (2011). SequenceMatrix: concatenation software for the fast assembly of multi-gene datasets with character set and codon information. **Cladistics** **27** (2): 171-180.
- VAZ-SILVA, W., MACIEL, N. M., NOMURA, F., MORAIS, A. R. D., BATISTA, V. G., SANTOS, D. L., ... & BASTOS, R. P. (2020). Guia de identificação das espécies de anfíbios (Anura e Gymnophiona) do estado de Goiás e do Distrito Federal, Brasil Central. **Sociedade Brasileira de Zoologia**.
- WEBER, L. N., & CARVALHO-E-SILVA, S. P. (2001). Descrição da larva de *Physalaemus signifer* (Girard, 1853) (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) e informações sobre a

reprodução e a distribuição geográfica da espécie. **Boletim do Museu Nacional**, **462**, 1-6.

WOGEL, H., ABRUNHOSA, P. A., & POMBAL JR, J. P. (2002). Atividade reprodutiva de *Physalaemus signifer* (Anura, Leptodactylidae) em ambiente temporário. **Iheringia. Série Zoologia**, **92**, 57-70.

RELAÇÃO DE FIGURAS

Figure 1. Phylogenetic relationships of species of the *Physalaemus cuvieri* clade, based on the 50% majority-rule consensus tree from Bayesian inference of a concatenated dataset of mitochondrial (*HI*) and nuclear (*RAG1*) genes. Terminals of the *P. signifer* clade and three species groups of the *P. cuvieri* clade were collapsed to facilitate visualization (see Appendix 1 for the terminals, voucher specimens, and locality data). Posterior probabilities (PP) appear near the nodes. Asterisks indicate PP = 1.0. Scale bar is given as nucleotide substitution rate.

Figure 2. *Physalaemus sp. nov.*, MCN 14400 (holotype), adult male in life from Dom Pedro de Alcântara municipality, Rio Grande do Sul, Brazil. Photo credits: M. D. Freire

Figure 3. *Physalaemus sp. nov.* (holotype MCN 14400; adult male): (A) dorsal and (B) ventral views. Scale bar = 7 mm.

Figure 4. *Physalaemus sp. nov.* (holotype MCN 14400; adult male): (A) dorsal and (B) lateral views of head. Scale bar = 2.5 mm.

Figure 5. *Physalaemus sp. nov.* (holotype MCN 14400; adult male): (A) ventral views of right hand and (B) right foot. Scale bar = 2.5 mm.

Figure 6. Ventral color pattern of *Physalaemus sp. nov.* in a live paratype specimen (MCN 14403).

Figure 7. Color pattern variation of *Physalaemus sp. nov.* in live paratype specimens. Photo credits: (A) Jan M. Karel, (B, C, D) P. Colombo.

Figure 8. Tadpole of *Physalaemus sp. nov.*, MCN 14504, Stage 37. (A) lateral view, (B) dorsal view (C) coloration in life, (D) oral disc (ventral view). Scale bar = 2.5 mm, Scale bar oral disc = 0.60 mm

Figure 9. Advertisement call of *Physalaemus sp. nov.* from holotype (MCN 14400). Spectrograms (top) and oscillograms (bottom).

Figure 10. Advertisement calls (spectrograms and corresponding oscillograms) of the three species of the *Physalaemus henselii* group and a comparative call of the morphologically similar *P. riograndensis* (*P. biligonigerus* group). (A) *Physalaemus sp.*

nov. [sound file: CFBH-voc 22]. (B) *Physalaemus henselii* [sound file: CFBH-voc 23]. (C) *Physalaemus fernandezae* [sound file: BCR 0013]. (D) *Physalaemus riograndensis* [sound file: FZ 6079]. See Appendix 1 for locality data and voucher specimens. Call sections are equally scaled (~1 s and 6 kHz).

Figure 11. Geographic distribution of *Physalaemus sp. nov.* and associated ecoregions in Rio Grande do Sul and Santa Catarina states

RELAÇÃO DAS TABELAS

Table 1. Measurements (in mm) and proportions of the *Physalaemus sp. nov.* Values are presented mean values \pm standard deviations (SD) and range. See Materials and methods section for the abbreviations of measurements.

Measurements and proportions	Males (N=22)	Females (N=11)
SVL	22.3 \pm 1.2 (19.6–24.7)	22.7 \pm 1.60 (19.6–25.0)
HL	5.6 \pm 0.4 (5.1–6.3)	5.8 \pm 0.5 (4.6–6.3)
HW	5.8 \pm 0.4 (5.1–6.5)	6.0 \pm 0.3 (5.3–6.6)
IOD	2.9 \pm 0.4 (2.1–3.6)	2.6 \pm 0.2 (2.5–2.9)
IND	2.2 \pm 0.2 (1.9–2.9)	2.1 \pm 0.1 (1.9–2.3)
THL	9.8 \pm 0.6 (8.5–10.9)	10.7 \pm 0.6 (9.7–11.3)
TBL	10.0 \pm 0.5 (8.9–11.3)	10.1 \pm 0.7 (8.7–11.2)
FL	11.3 \pm 0.68 (9.9–12.5)	11.4 \pm 0.6 (10.4–12.0)
HAL	5.5 \pm 0.4 (4.8–6.1)	5.3 \pm 0.2 (4.8–5.5)
SL	2.6 \pm 0.2 (2.2–3.0)	2.7 \pm 0.3 (2.1–3.2)
END	1.5 \pm 0.1 (1.3–1.8)	1.5 \pm 0.1 (1.3–1.6)
ED	2.2 \pm 0.1 (2.0–2.4)	2.3 \pm 0.1 (2.2–2.4)
TD	1.2 \pm 0.1 (0.9–1.4)	1.1 \pm 0.0 (1.0–1.2)
FOL	5.1 \pm 0.5 (4.5–6.6)	5.2 \pm 0.5 (4.6–6.2)
AL	4.0 \pm 0.3 (3.3–4.5)	4.3 \pm 0.4 (3.5–5.1)
HL/HW	0.96 \pm 0.01	0.95 \pm 0.05
HL/SVL	0.25 \pm 0.01	0.25 \pm 0.01
HW/SVL	0.26 \pm 0.01	0.27 \pm 0.01
THL/SVL	0.44 \pm 0.03	0.44 \pm 0.02
TBL/SVL	0.45 \pm 0.02	0.44 \pm 0.02
END/ED	0.69 \pm 0.07	0.63 \pm 0.09
FOL/SVL	0.23 \pm 0.01	0.23 \pm 0.02

Table 2. Measurements (in mm) of the *Physalaemus sp. nov.* tadpoles. Values are presented mean values \pm standard deviations (SD) and range. See Materials and methods section for the abbreviations of measurements.

Measurements	27 N=2	31 N=3	32	33 N=3	34 N=4	37 N=2
TL	11.45 \pm 0.75 (10.7 - 12.2)	14.13 \pm 0.68 (13.2-14.8)	16.2	17.00 \pm 0.17 (16.2-17.5)	16.0 \pm 0 (16.6)	17.7 \pm 0.4 (17.3-18)
BL	4.89 \pm 0 (4.08-4.89)	5.40 \pm 0.22 (5.09-5.61)	6.32	6.3 \pm 0.32 (6.12-6.8)	6.02 \pm 0.11 (5.91-6.12)	6.6
TAL	6.93 \pm 0.51 (6.42-7.44)	8.40 \pm 0.21 (8.16-8.67)	9.28	10.4 \pm 0.82 (9.38-11.4)	10.1 \pm 0.10 (10-10.2)	11.9
BMW	3.25 \pm 0.39 (2.86- 3.64)	3.63 \pm 0.31 (3.25-4.0)	4.36	4.1 \pm 0.29 (3.9-4.52)	3.98 \pm 0.08 (3.9-4.05)	4.3 \pm 0.10 (4.16-4.42)
BWN	1.82 \pm 0.26 (1.56-2.08)	1.82 \pm 0.21 (1.56-2.08)	1.56	2.0 \pm 0.39 (1.56-2.34)	1.87 \pm 0.05 (1.82-1.95)	2.1
BWE	2.65 \pm 0.31 (2.34- 2.96)	2.89 \pm 0.19 (0.93-1.14)	2.91	3.3 \pm 0.36 (3.0-3.79)	3.30 \pm 0.08 (3.22-3.38)	3.4 \pm 0.1 (3.38-3.48)
TMW	0.82 \pm 0.10 (0.72- 0.93)	1.04 \pm 0.09 (0.93-1.14)	1.3	1.4 \pm 0.07 (1.3-1.45)	1.35 \pm 0.05 (1.3-1.4)	1.5 \pm 0.1 (1.45-1.56)
BMH	2.73 \pm 0.13 (2.6- 2.86)	2.94 \pm 0.23 (2.75-3.27)	3.27	3.4 \pm 0.30 (3.01-3.64)	3.22 \pm 0.16 (3.06-3.38)	3.6 \pm 0.1 (3.53-3.64)
MTH	2.08 \pm 0 (2.08-2.80)	2.77 \pm 0.17 (2.54-2.96)	3.38	3.3 \pm 0.27 (2.96-3.53)	3.38 \pm 0.11 (3.27-3.48)	3.5 \pm 0.1 (3.32-3.58)
TMH	0.90 \pm 0.07 (0.83- 0.98)	1.12 \pm 0.08 (1.04-1.24)	1.45	1.4 \pm 0.08 (1.3-1.5)	1.35 \pm 0 (1.35)	1.6
RSD	2.64 \pm 0.15 (2.49- 2.8)	3.33 \pm 0.23 (3.12-3.63)	3.64	3.7 \pm 0.02 (3.69-3.74)	3.74 \pm 0 (3.74)	3.9 \pm 0.3 (3.64-4.16)
FN	0.42 \pm 0.08 (0.34- 0.51)	0.46 \pm 0.07 (0.37-0.51)	0.47	0.5 \pm 0.12 (0.34-0.61)	0.49 \pm 0.05 (0.44-0.54)	0.5
EN	0.85 \pm 0.17 (0.68- 1.02)	0.99 \pm 0.06 (0.91-1.05)	1.12	1.2 \pm 0.06 (1.12-1.25)	1.17 \pm 0.02 (1.15-1.19)	1.2 \pm 0.1 (1.08-1.29)
IND	0.82 \pm 0.08 (0.74- 0.91)	0.91 \pm 0.05 (0.85-0.98)	1.02	1.0 \pm 0.06 (0.91-1.05)	1.02 \pm 0 (1.02)	1.1
N	0.16 \pm 0.01 (0.15- 0.18)	0.18 \pm 0 (0.18)	0.26	0.2 \pm 0.03 (0.2-0.26)	0.20 \pm 0 (0.20)	0.2
ESD	1.12 \pm 0.17 (0.95-1.29)	1.27 \pm 0.18 (1.02-1.42)	1.36	1.5 \pm 0.13 (1.39-1.7)	1.53 \pm 0.04 (1.49-1.56)	1.6
E	0.60 \pm 0.06 (0.54- 0.67)	0.67 \pm 0.03 (0.65-0.72)	0.88	0.9 \pm 0.03 (0.85-0.93)	0.86 \pm 0.03 (0.83-0.88)	1.0 \pm 0.1 (0.91-1.01)
IOD	1.69 \pm 0.26 (1.43-1.95)	2.04 \pm 0.12 (1.95-2.21)	2.25	2.3 \pm 0.09 (2.15-2.36)	2.18 \pm 0.05 (2.13-2.23)	2.4
OD	1.70 \pm 0.07 (1.78-1.63)	1.43 \pm 0.19 (1.26-1.70)	1.8	1.8 \pm 0.12 (1.63-1.89)	1.48 \pm 0.01 (1.47-1.49)	1.8 \pm 0.2 (1.68-1.99)
DG	1.12 \pm 0.14 (0.85-1.26)	1.00 \pm 0.19 (0.81-1.19)	1.13	1.2 \pm 0.21 (0.84-1.32)	1.47 \pm 0 (1.47)	1.3
DFH	0.98 \pm 0.13 (0.85- 1.12)	1.11 \pm 0.10 (0.98-1.22)	1.36	1.3 \pm 0.14 (1.19-1.53)	1.36	1.4 \pm 0.1 (1.29-1.42)
VFH	0.74 \pm 0.10 (0.64-0.85)	0.78 \pm 0.10 (0.64-0.88)	0.95	1.0 \pm 0.08 (0.85-1.05)	0.98	1

APPENDICES

APPENDIX 1. GenBank accession numbers, and associated voucher specimens with locality data of sequences included in the phylogenetic analysis

APPENDIX 2. Specimens morphologically examined in this study

APPENDIX 3. Literature consulted for morphological comparison of adults with congener species of *Physalaemus*.

APPENDIX 4. Literature consulted for morphological comparison of tadpoles with congener species of *Physalaemus*.

APPENDIX 5. Photographs of *Physalaemus riograndensis*, *Physalaemus henselii* and *Physalaemus fernandezae*.

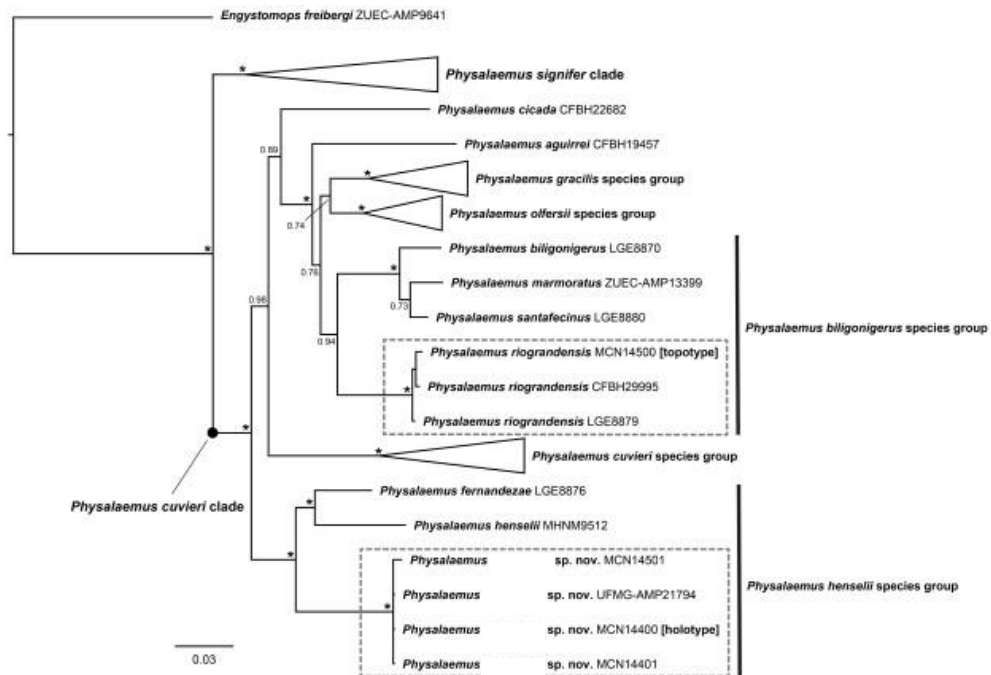


Figure 1



Figure 2



Figure 3

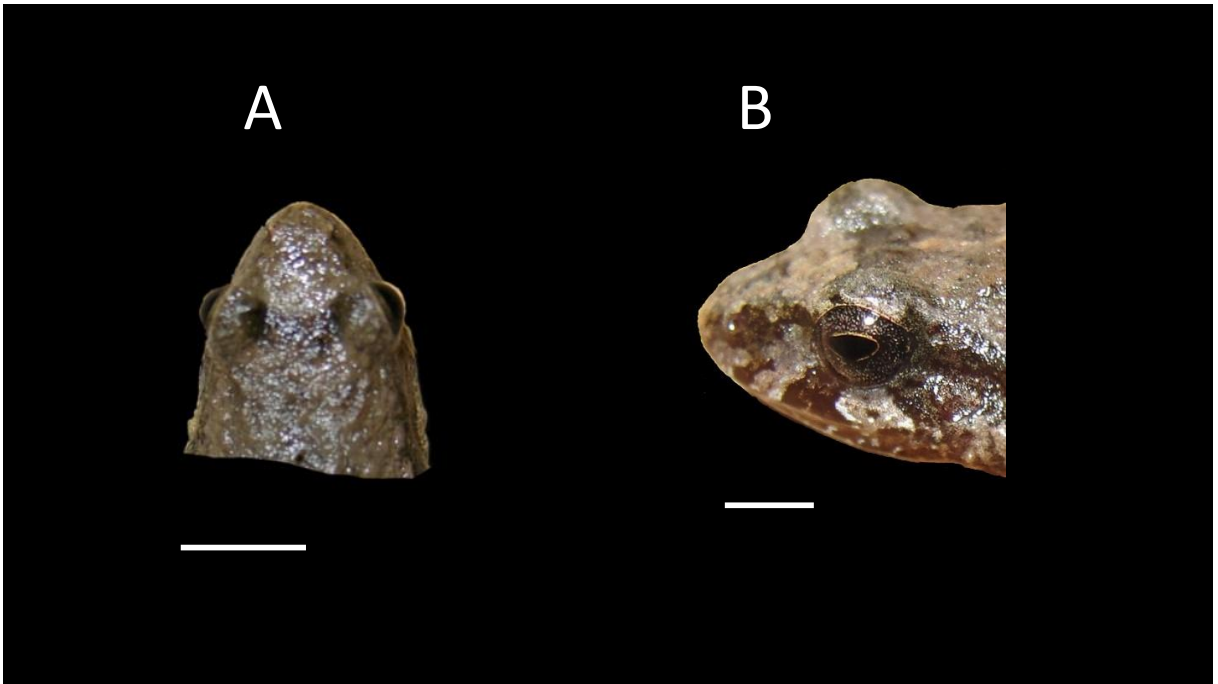


Figure 4



Figure 5



Figure 6

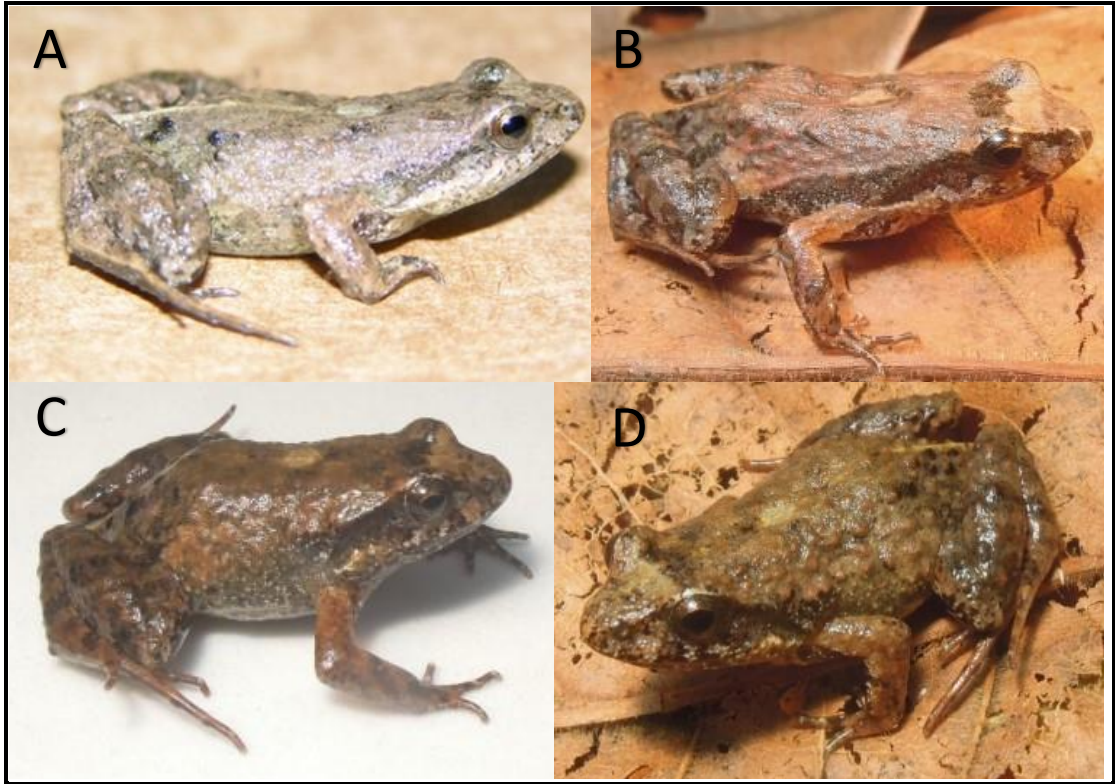


Figure 7

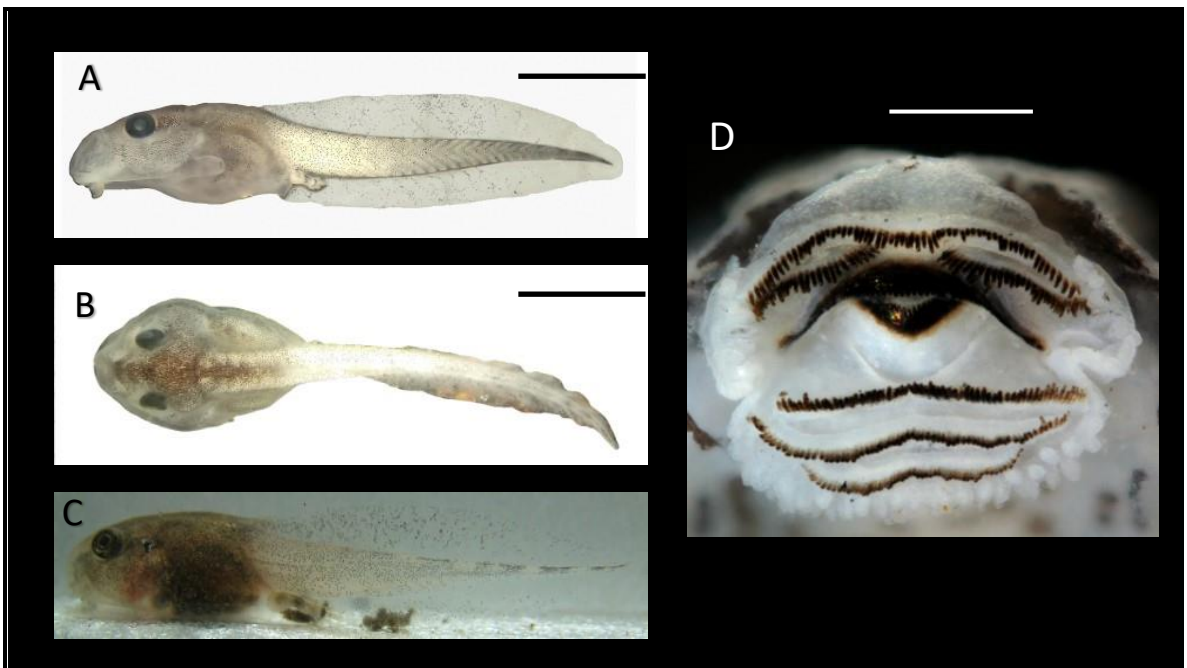


Figure 8

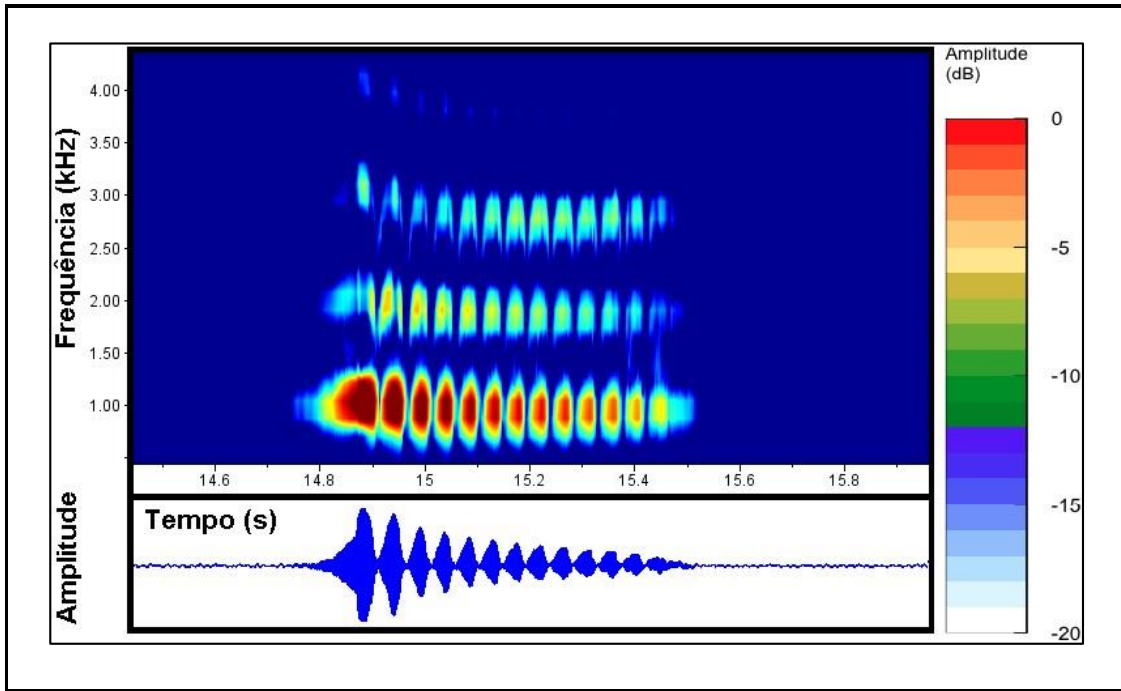


Figure 9

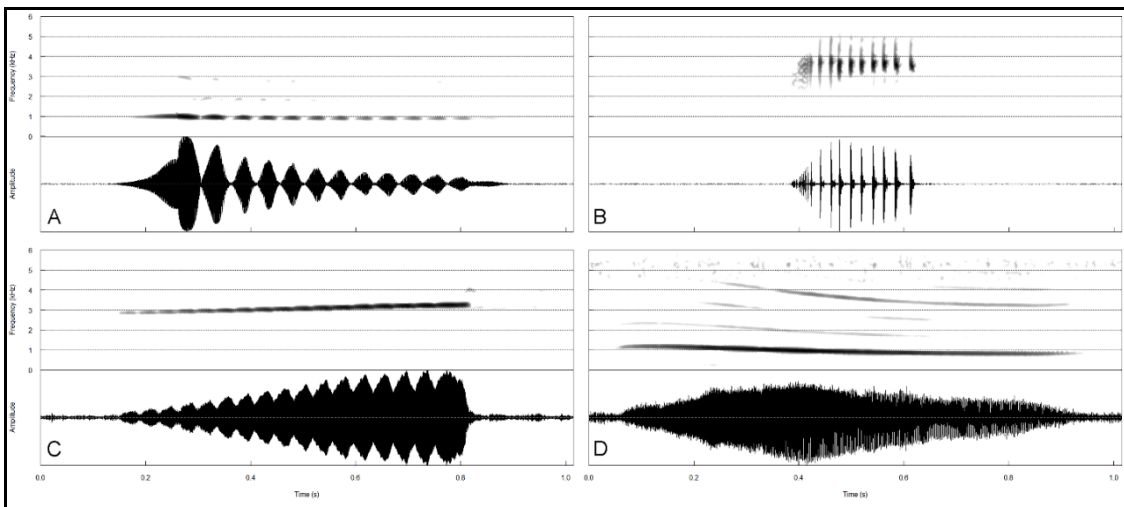


Figure 10

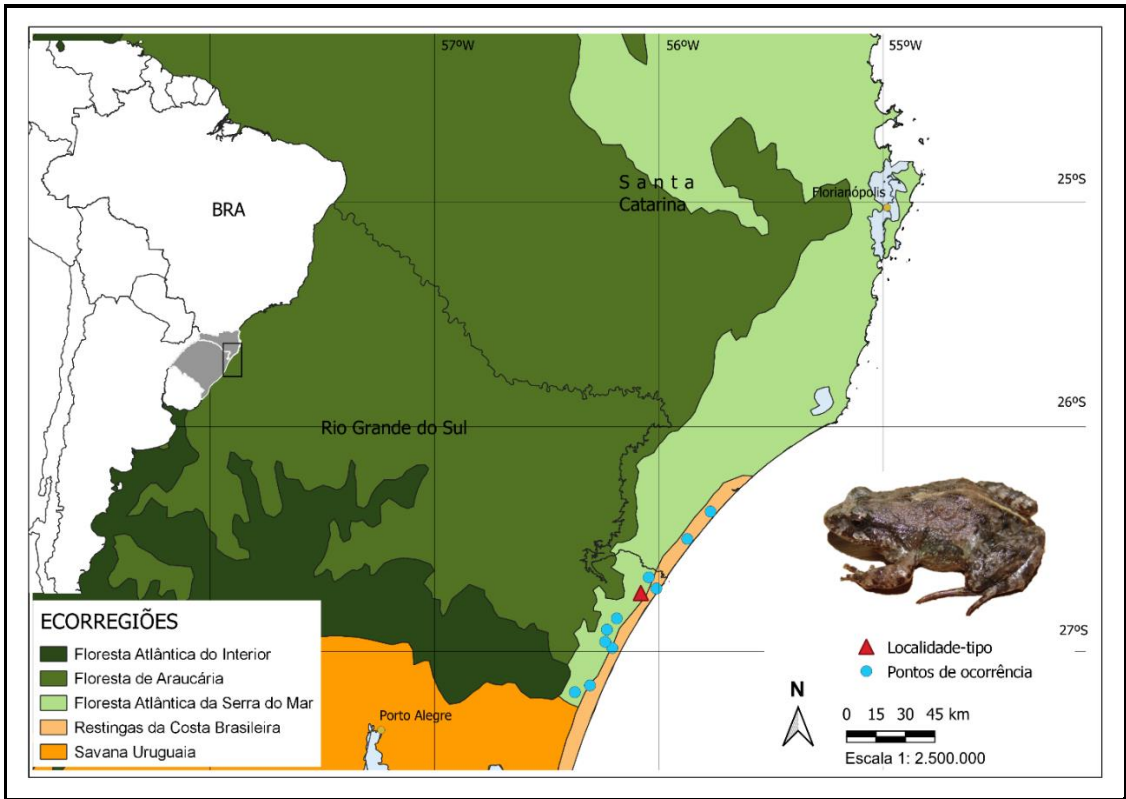


Figure 11

Appendix 1. GenBank accession numbers, and associated voucher specimens with locality data, of sequences included in the phylogenetic analysis. The H1 strand corresponds to 12S-tRNAval-16S sequences. "###" indicates a new sequence to be submitted Genbank (upon acceptance of this manuscript)

TERMINAL	CLADE	SPECIES GROUP	FIELD# / TISSUE#	MUSEUM#	H1	RAG1	LOCALITY
<i>Physalaemus aguirrei</i>	<i>P. cuvieri</i>	Not assigned	CFBHT9041	CFBH19457	KP146065	KP145999	BRAZIL: Espírito Santo, Linhares
<i>Physalaemus albifrons</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. cuvieri</i>	CFBHT5357	CFBH16137	KP146010	KP145948	BRAZIL: Ceará, Viçosa do Ceará
<i>Physalaemus albonotatus</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. cuvieri</i>		IIBP864	KP146054	KP145942	PARAGUAY: Concepción, Cerrado del Tagatiyá
<i>Physalaemus araxa</i>	<i>P. signifer</i>	Not assigned		ZUEC-AMP24120	MW383220	—	BRAZIL: Espírito Santo, Ibitirama, Parque Nacional do Caparaó
<i>Physalaemus atim</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. cuvieri</i>	CFBHT3756	CFBH12512	###	###	BRAZIL: Goiás, Campo Limpo de Goiás
<i>Physalaemus atlanticus</i>	<i>P. signifer</i>	Not assigned	CFBHT1398	CFBH7918	KP145927/40	—	BRAZIL: São Paulo, Ubatuba
<i>Physalaemus barrioi</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. gracilis</i>	SMRP303.1	ZUEC-AMP18146	KP146067	KP145950	BRAZIL: São Paulo, São José do Barreiro, Serra da Bocaina
<i>Physalaemus biligonigerus</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. biligonigerus</i>		LGE8870	KP146084	KP145946	ARGENTINA: Santiago del Estereo, Añatuya
<i>Physalaemus bokermanni</i>	<i>P. signifer</i>	Not assigned	SMRP375.1	ZUEC-AMP17448	KP145928/36	KP145962	BRAZIL: São Paulo, Bertioga
<i>Physalaemus camacan</i>	<i>P. signifer</i>	Not assigned	SMRP353.2	ZUEC-AMP17467	KP146094	KP145976	BRAZIL: Bahia, Ilhéus
<i>Physalaemus carrizorum</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. gracilis</i>		LGE8877	KP146072	KP145953	ARGENTINA: Misiones, Parque P. Moconá
<i>Physalaemus centralis</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. cuvieri</i>	SMRP96.11	ZUEC-AMP13697	KP146061	KP145968	BRAZIL: São Paulo, Vitória Brasil
<i>Physalaemus cicada</i>	<i>P. cuvieri</i>	Not assigned	CFBHT11073	CFBH22682	KP146063	KP145996	BRAZIL: Bahia, Contendas do Sincorá
<i>Physalaemus claptoni</i>	<i>P. signifer</i>	<i>P. deimaticus</i>	FL1641	UFMG-AMP16786	MG651910	—	BRAZIL: Minas Gerais, Santana do Riacho
<i>Physalaemus crombiei</i>	<i>P. signifer</i>	Not assigned	TRC29	AAG-UFU6164	###	###	BRAZIL: Espírito Santo, Santa Teresa
<i>Physalaemus cuvieri</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. cuvieri</i>	SMRP92.140	ZUEC-AMP14649	KP146038	KP145985	BRAZIL: Rio Grande do Sul, Passo Fundo
<i>Physalaemus deimaticus</i>	<i>P. signifer</i>	<i>P. deimaticus</i>	SMRP497.2	ZUEC-AMP21193	KP146100	—	BRAZIL: Minas Gerais, Diamantina

<i>Physalaemus ephippifer</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. cuvieri</i>	SMRP252.40	ZUEC-AMP13737	KP146004	KP145972	BRAZIL: Pará, Belém
<i>Physalaemus erikae</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. cuvieri</i>	CFBHT16267	CFBH32463	KP146008	—	BRAZIL: Bahia, Uruçuca
<i>Physalaemus erythros</i>	<i>P. signifer</i>	<i>P. deimaticus</i>		MNRJ55001	KP145930/38	—	BRAZIL: Minas Gerais, Catas Altas
<i>Physalaemus evangelistai</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. gracilis</i>		MNRJ55103	KP146069	—	BRAZIL: Minas Gerais, Catas Altas
<i>Physalaemus feioi</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. olfersii</i>	SMRP247.1	ZUEC-AMP16247	KP146080	—	BRAZIL: Minas Gerais, Viçosa
<i>Physalaemus fernandezae</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. henselii</i>		LGE8876	KP146068	—	ARGENTINA: Buenos Aires, Punta Lara
<i>Physalaemus fischeri</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. cuvieri</i>	MR005		DQ337211	—	VENEZUELA: Guárico, Calabozo
<i>Physalaemus gracilis</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. gracilis</i>		MHNM9511	KP146073	KP145979	URUGUAY: Treinta y Tres, Bañado de los Oliveras
<i>Physalaemus henselii</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. henselii</i>		MHNM9512	KP145924/34	—	URUGUAY: Rivera, Pueblo Madera
<i>Physalaemus jordanensis</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. gracilis</i>	CFBHT2291	CFBH9903	KP146070	KP145997	BRAZIL: São Paulo, Campos do Jordão
<i>Physalaemus kroyeri</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. cuvieri</i>	CFBHT11432	CFBH23652	KP146005	KP145941	BRAZIL: Bahia, Maracás
<i>Physalaemus lateristriga</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. olfersii</i>	SMRP365.2	ZUEC-AMP18207	KP146077	KP145946	BRAZIL: São Paulo, Iporanga
<i>Physalaemus lisei</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. gracilis</i>		LGE8878	KP146075	KP145947	BRAZIL: Rio Grande do Sul, Gravataí
<i>Physalaemus maculiventris</i>	<i>P. signifer</i>	Not assigned	CT-MZUSP01093	MZUSP132062	KP145929/37	KP145978	BRAZIL: São Paulo, Bananal
<i>Physalaemus marmoratus</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. biligonigerus</i>	SMRP43.48	ZUEC-AMP13399	KP14508	KP145957	BRAZIL: São Paulo, São José do Rio Preto
<i>Physalaemus maximus</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. olfersii</i>		UFMG-AMP9625	KP146079	—	BRAZIL: Minas Gerais, Ouro Branco
<i>Physalaemus moreirae</i>	<i>P. signifer</i>	Not assigned	CFBHT8341	CFBH19491	KP146089	KP145949	BRAZIL: São Paulo, Guarujá
<i>Physalaemus nanus</i>	<i>P. signifer</i>	Not assigned	CFBHT2096	CFBH9377	KP146096	—	BRAZIL: Santa Catarina, Anitápolis
<i>Physalaemus nattereri</i>	<i>P. signifer</i>	Not assigned	SMRP58.1	ZUEC-AMP17506	KP146103	—	BRAZIL: Mato Grosso do Sul, Três Lagoas
<i>Physalaemus obtectus</i>	<i>P. signifer</i>	Not assigned		MNRJ35018	KP146093	—	BRAZIL: Espírito Santo, Linhares
<i>Physalaemus olfersii</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. olfersii</i>	SMRP247.4	ZUEC-AMP16250	KP146078	KP145993	BRAZIL: Rio de Janeiro, Teresópolis

<i>Physalaemus sp. nov.</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. henselii</i>		MCN14400	###	###	BRAZIL: Rio Grande do Sul, Dom Pedro de Alcântara (type locality: holotype)
<i>Physalaemus sp. nov.</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. henselii</i>		MCN14401	###	###	BRAZIL: Rio Grande do Sul, Dom Pedro de Alcântara (type locality: paratype)
<i>Physalaemus sp. nov.</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. henselii</i>	BG04	MCN14501	###	###	BRAZIL: Santa Catarina, Balneário Gaivota
<i>Physalaemus sp. nov.</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. henselii</i>	BG05	UFMG-AMP21794	###	###	BRAZIL: Santa Catarina, Balneário Gaivota
<i>Physalaemus riograndensis</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. biligonigerus</i>		MCN14500	###	###	BRAZIL: Rio Grande do Sul, Osório (type locality)
<i>Physalaemus riograndensis</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. biligonigerus</i>	CFBHT17836	CFBH29995	###	###	BRAZIL: Rio Grande do Sul, Santa Cruz do Sul
<i>Physalaemus riograndensis</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. biligonigerus</i>		LGE8879	KP146082	—	ARGENTINA: Misiones, Profundidad
<i>Physalaemus rupestris</i>	<i>P. signifer</i>	<i>P. deimaticus</i>	PCAG1768	UFMG-AMP13369	KP146099		BRAZIL: Minas Gerais, Lima Duarte, Parque Estadual do Ibitipoca
<i>Physalaemus santafecinus</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. biligonigerus</i>		LGE8880	KP146081	KP145994	ARGENTINA: La Capital, Santa Fé
<i>Physalaemus signifer</i>	<i>P. signifer</i>	Not assigned	TNHC60073		DQ337209		BRAZIL: Rio de Janeiro, Seropédica
<i>Physalaemus soaresi</i>	<i>P. cuvieri</i>	<i>P. olfersii</i>		MNRJ60323	KP146076		BRAZIL: Rio de Janeiro, Bangu
<i>Physalaemus spiniger</i>	<i>P. signifer</i>	Not assigned	SMRP294.12	ZUEC-AMP14516	KP146097		BRAZIL: Paraná, Curitiba
<i>Engystomops freibergeri</i>	Outgroup		SMRP31.51	ZUEC-AMP9641	KP146105	GQ375520	BRAZIL: Acre, Foz do Tejo

Appendix 2. Examined Specimens

Physalaemus albonotatus MCN 8616. *Physalaemus biligonigerus* MCN 11200, 13634. *Physalaemus centralis* MCN 12054. *Physalaemus cicada* MCN 12771. *Physalaemus cuvieri* MCN 9199, 9433, 9436, 14051. *Physalaemus gracilis* MCN 3980, 5893, 7975, 9021. *Physalaemus henselli* MCN 961, 970, 989, 2374, 2375, 2377, 2379, 3666, 5661, 7618, 8321, 9519, 9664, 15667. *Physalaemus lateristriga*: MCN 13416. *Physalaemus lisei*. MCN 10536, 10537, 10538, 10542, 13968, 14001. *Physalaemus maculiventris* MCN 12751. *Physalaemus marmoratus* UFRGS 5279, 6230. *Physalaemus nahdereri* MCN 12751. *Physalaemus nanus* MCN 1170, 711709. *Physalaemus olfersi* MCN 13416. *Physalaemus riograndensis* MCN 13819. *Physalaemus santafecinus* UFRGS 1948, 1949, 1950. *Physalaemus signifer* MCN 12645

Appendix 3. Literature consulted for morphological comparison of adults with congener species of *Physalaemus*.

Barrio, A. 1965. Afinidades del canto nupcial de las especies cavícolas del género *Leptodactylus* (Anura - Leptodactylidae). *Physis*. Buenos Aires 25: 401–410.

Bokermann, W. C. A. 1962. Sobre uma pequena coleção de anfíbios do Brasil Central, com de descrição de una espécie nova de *Physalaemus* (Amphibia, Salientia). *Revista Brasileira de Biologia* 22: 213–219.

Bokermann, W. C. A. 1966. Dos nuevas especies de *Physalameus* de Espírito Santo, Brasil (Amphibia, Leptodactylidae). *Physis*. Buenos Aires 26: 193–202.

Bokermann, W. C. A. 1966a. Notas sobre três espécies de *Physalaemus* de Maracas, Bahia (Amphibia, Leptodactylidae). *Revista Brasileira de Biologia* 26: 253–259.

Bokermann, W. C. A. 1967. Três novas espécies de *Physalaemus* do sudeste brasileiro (Amphibia, Leptodactylidae). *Revista Brasileira de Biologia* 27: 135–143.

Brasileiro, C. A., and C. F. B. Haddad. 2015. A new species of *Physalaemus* from central Brazil (Anura: Leptodactylidae). *Herpetologica* 71: 280–288

Braun, P. C., and C. A. S. Braun. 1977. Nova espécie de *Physalaemus* do estado do Rio Grande do Sul, Brasil (Anura, Leptodactylidae). *Revista Brasileira de Biologia* 37: 867–871.

Caramaschi, U., L. C. Carcerelli, and R. N. Feio. 1991. A new species of *Physalameus* (Anura: Leptodactylidae) from Minas Gerais, southeastern Brazil. *Herpetologica* 47: 148–151.

- Caramaschi, U., R. N. Feio, and A. S. Guimarães, Neto. 2003. A new, brightly colored species of *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae) from Minas Gerais, southeastern Brazil. *Herpetologica* 59: 519–524.
- Cardozo, D. E., and M. O. Pereyra. 2018. A new species of *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic Forest of Misiones, northeastern Argentina. *Zootaxa* 4387: 580–590.
- Cassini, C. S., C. A. G. Cruz, and U. Caramaschi. 2010. Taxonomic review of *Physalaemus olfersii* (Lichtenstein & Martens, 1856) with revalidation of *Physalaemus lateristriga* (Steindachner, 1864) and description of two new related species (Anura: Leiuperidae). *Zootaxa* 2491: 1–33.
- Cruz, C. A. G., C. S. Cassini, and U. Caramaschi. 2008. A new species of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leiuperidae) from southern Brazil. *South American Journal of Herpetology* 3: 239–243.
- Cruz, C. A. G., L. B. Nascimento, and R. N. Feio. 2007. A new species of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leiuperidae) from southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia* 28: 457–465.
- Feio, R. N., J. P. Pombal, Jr., and U. Caramaschi. 1999. New *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae) from the Atlantic Forest of Minas Gerais, Brazil. *Copeia* 1999: 141–143.
- Haddad, C. F. B., and I. Sazima. 2004. A new species of *Physalaemus* (Amphibia; Leptodactylidae) from the Atlantic Forest in southeastern Brazil. *Zootaxa* 479: 1–12.
- Heyer, W. R., and A. J. Wolf. 1989. *Physalaemus crombiei* (Amphibia: Leptodactylidae), a new frog species from Espírito Santo, Brazil, with comment on the *P. signifer* group. *Proceedings of the Biological Society of Washington* 102: 500–506.
- Izecksohn, E. 1965. Uma nova espécie de *Physalaemus* Fitzinger do Estado do Rio de Janeiro (Amphibia, Anura). *Revista Brasileira de Biologia* 25: 165–168.
- Leal, F., F. S. F. Leite, W. da Costa, L. B. Nascimento, L. B. Lourenço, and P. C. de A. Garcia. 2020. Amphibians from Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil. VI: A new species of the *Physalaemus deimaticus* Group (Anura, Leptodactylidae). *Zootaxa* 4766: 306–330.
- Leal, F., C. Zornosa-Torres, G. Augusto-Alves, S. Dena, T. L. Pezzuti, F. S. F. Leite, L. B. Lourenço, P. C. de A. Garcia, and L. F. Toledo. 2021. Head in the clouds: A new dwarf frog species of the *Physalaemus signifer* clade (Leptodactylidae, Leiuperinae) from the top of the Brazilian Atlantic Forest. *European Journal of Taxonomy* 764: 119–151.
- Pimenta, B. V. S., C. A. G. Cruz, and D. L. Silvano. 2005. A new species of *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic Rain Forest of southern Bahia, Brazil. *Amphibia-Reptilia* 26: 201–210.
- Pombal, J. P., Jr., and C. A. Madureira. 1997. A new species of *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic rain forest of northeastern Brazil. *Alytes. Paris* 15: 105–112.

Sazima, I., and U. Caramaschi. 1988 "1986". Descrição de *Physalaemus deimaticus* sp. n., observações sobre comportamento deimático em *P. nattereri* (Steindn.) Anura. *Revista de Biologia*. Lisboa 13: 91–101.

Weber, L. N., L. P. Gonzaga, and S. P. de Carvalho-e-Silva. 2006 "2005". A new species of *Physalaemus* Fitzinger, 1826 from the lowland Atlantic Forest of Rio de Janeiro state, Brazil (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Arquivos do Museu Nacional*. Rio de Janeiro 63: 677–684.

Appendix 4. Literature consulted for morphological comparison of tadpoles with congener species of *Physalaemus*.

Alcalde, L., G. S. Natale, and R. Cajade. 2019. The tadpole of *Physalaemus fernandezae* (Anura: Leptodactylidae). *Herpetological Journal*. London 16: 203–211.

Baêta, D., A. C. C. Lourenço, and L. B. Nascimento. 2007. Tadpole and advertisement call of *Physalaemus erythros* Caramaschi, Feio & Guimarães-Neto, 2003 (Amphibia, Anura, Leiuperidae). *Zootaxa* 1623: 39–46.

Baêta, D., A. C. C. Lourenço, T. L. Pezzuti, and M. R. S. Pires. 2007. The tadpole, advertisement call, and geographic distribution of *Physalaemus maximus* Feio, Pombal & Caramaschi, 1999 (Amphibia, Anura, Leiuperidae). *Arquivos do Museu Nacional*. Rio de Janeiro 65: 27–32.

Barrio, A. (1964) Relaciones morfológicas, eto-ecológicas y zoogeográficas entre *Physalaemus henseli* (Peters) y *P. fernandezae* (Müller) (Anura, Leptodactylidae). *Acta Zool. Lilloa*. 20, 284–305.

Bokermann, W.C.A. (1963) Girinos de anfíbios brasileiros 2 (Amphibia, Salientia). *Revista Brasileira de Biologia*, 23, 349–353

Borteiro, C., and F. Kolenc. 2007. Redescription of the tadpoles of three species of frogs from Uruguay (Amphibia: Anura: Leiuperidae and Leptodactylidae), with notes on natural history. *Zootaxa* 1638: 1–20.

Both, C., Kwet, A. & Solé, M. (2006) The tadpole of *Physalaemus lisei* Braun & Braun, 1977 (Anura, Leptodactylidae) from southern Brazil. *Alytes*, 24, 109-116.

Cardoso, A. J., and C. F. B. Haddad. 1985. Nova espécie de *Physalaemus* do grupo *signiferus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Revista Brasileira de Biologia* 45: 33–37.

Cei, J. M. 1980. Amphibians of Argentina. *Monitore Zoologico Italiano. Nuova Serie, Monographia*. Firenze 2: ixii + 609.

Ceron, K., and D. J. Santana. 2017. The tadpole of *Physalaemus nanus* (Boulenger, 1888) (Anura, Leptodactylidae) from Southern Brazil. *Zootaxa* 4277: 280–284.

- Cruz, C. A. G., L. B. Nascimento, and R. N. Feio. 2007. A new species of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leiuperidae) from southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia* 28: 457–465.
- Duelmamm 1997. Amphibians of La Escalera Region, southeastern Venezuela: taxonomy, ecology, and biogeogr. *Scient. Pappers, Nat. H. Museum, Univ. of Kansas* 2:1-52
- Fabrezi & Vera, 1997 Caracterización morfológica de larvas de anuros del noroeste argentino; *Cuadernos de herpetología*, 11 (1-2): 37-49
- Giaretta, A. A., L. B. Martins, and M. P. d. Santos. 2009. Further notes on the taxonomy of four species of *Physalaemus* (Anura, Leiuperidae) from the Atlantic Forest of southeastern Brazil. *Zootaxa* 2266: 51–60.
- Gomes, F. B. R., D. B. Provete, and I. A. Martins. 2010. The tadpole of *Physalaemus jordanensis* Bokermann, 1967 (Anura, Leiuperidae) from Campos do Jordão, Serra da Mantiqueira, Southeastern Brazil. *Zootaxa* 2327: 65–68.
- Haddad, C. F. B., and I. Sazima. 2004. A new species of *Physalaemus* (Amphibia; Leptodactylidae) from the Atlantic Forest in southeastern Brazil. *Zootaxa* 479: 1–12.
- Haddad, C. F. B., and J. P. Pombal, Jr. 1998. Redescription of *Physalaemus spiniger* (Anura: Leptodactylidae) and description of two new reproductive modes. *Journal of Herpetology* 32: 557–565.
- Heyer, W. R., A. S. Rand, C. A. G. Cruz, O. L. Peixoto, and C. E. Nelson. 1990. Frogs of Boracéia. *Arquivos de Zoologia. São Paulo* 31: 231–410.
- Kehr, A. I., E. F. Schaefer, and M. I. Duré. 2004. The tadpole of *Physalaemus albonotatus* (Anura: Leptodactylidae). *Journal of Herpetology* 38: 145–148
- Kolenc, F., C. Borteiro, M. Tedros, D. Núñez, and R. Maneyro. 2006. The tadpole of *Physalaemus henselii* (Peters) (Anura: Leiuperidae). *Zootaxa* 1360: 41–50.
- Langone, J.A. (1989) Descripción de la larva de *Physalaemus gracilis* (Boulenger, 1883) (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Comun. Comum. Zool. Del Museo de H. Natural de Montevideo*, 12, 1-11.
- Mello, C. M., D. da S. Gonçalves, D. de C. Rossa-Feres, and C. E. Conte. 2021. The tadpole of *Physalaemus lateristriga* (Steindachner, 1864) (Anura: Leptodactylidae): external and oral internal morphology. *Zootaxa* 4948: 447–450
- Nascimento, L.B., Carvalho Jr., R.R., Wogel, H., Fernandes, D.S. & Feio, R.N. (2001) Reprodução e descrição do girino de *Physalaemus rupestris* Caramaschi, Carcerelli & Feio, 1991 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Boletim do Museu Nacional, Nova Série, Série Zoologia*, 450, 1–10.
- Nomura, F., Rossa-Feres, D.C. & Prado, V.H.M. (2003) The tadpole of *Physalaemus fuscomaculatus* (Anura: Leptodactylidae), with the description of internal oral morphology. *Zootaxa*. 370, 1-8

- Oliveira, F. F. R. de, L. B. Nascimento, P. C. Eterovick, and I. Sazima. 2013. Description of the tadpole and redescription of the advertisement call of *Physalaemus evangelistai* (Anura, Leiuperidae), with notes on its natural history. *Journal of Herpetology* 47: 539–543.
- Oliveira, M. I. R. R. de, L. N. Weber, and J. Ruggeri. 2010. The tadpole of *Physalaemus albifrons* (Spix, 1824) (Anura, Leiuperidae). *South American Journal of Herpetology* 5: 249–254.
- Perotti, M.G. & Céspedes, J.A. (1999) The tadpole of *Physalaemus santafecinus*, with comments on the buccoharyngeal morphology. *Journal of Herpetology*, 33, 312–315.
- Perotti, M.G. (1997) The tadpole of *Physalaemus cuqui* Lobo, 1993 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Amphibia-Reptilia*, 18, 427-432.
- Pezzuti, T. L., F. S. F. Leite, D. de C. Rossa-Feres, and P. C. de A. Garcia. 2021. The tadpoles of the Iron Quadrangle, southeastern Brazil: A baseline for larval knowledge and anuran conservation in a diverse and threatened region. *South American Journal of Herpetology* 22 (Special Issue): 1–107
- Pezzuti, T. L., F. S. F. Leite, D. H. da Silva, A. C. C. Lourenço, and D. Baêta. 2019. The tadpole of *Physalaemus orophilus* from the Atlantic rainforest of southeastern Brazil (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Zootaxa* 4629: 144–145.
- Pimenta, B. V. S., and C. A. G. Cruz. 2004. The tadpole and advertisement call of *Physalaemus aguirrei* Bokermann, 1966 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Amphibia-Reptilia* 25: 197–204.
- Pimenta, B. V. S., C. A. G. Cruz, and D. L. Silvano. 2005. A new species of *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic Rain Forest of southern Bahia, Brazil. *Amphibia-Reptilia* 26: 201–210.
- Pombal, J. P., Jr., and C. A. Madureira. 1997. A new species of *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic rain forest of northeastern Brazil. *Alytes*. Paris 15: 105–112.
- Provete, D. B., M. V. Garey, L. F. Toledo, J. Nascimento, L. B. Lourenço, D. de C. Rossa-Feres, and C. F. B. Haddad. 2012. Resdescription of *Physalaemus barrioi* (Anura: Leiuperidae). *Copeia* 2012: 507–518.
- Provete, D. B., M. V. Garey, N. Y. N. Dias, and D. de C. Rossa-Feres. 2011. The tadpole of *Physalaemus moreirae* (Anura: Leiuperidae). *Herpetologica* 67: 258–270.
- Rossa-Feres, D. de C., and F. Nomura. 2006 "2005". Characterization and taxonomic key for tadpoles (Amphibia: Anura) from the northwestern region of São Paulo State, Brazil. *Biota Neotropical*. São Paulo 6 (2: bn00706012006): 1–26
- Rossa-Feres, D.C. & Jim J.S. (1993) Tadpole of *Physalaemus centralis* (Anura, Leptodactylidae). *Copeia*, 2, 566–569
- Ruggeri, J., Ferreira, C.P. & Weber, L.N. (2011) The tadpole of *Physalaemus angrensis* Weber, Gonzaga, and Carvalho-e-Sila, 2005 (Anura, Leptodactylidae). *SAJH*, 6, 3, 229–233.

Vera Candiotti, M. F. 2007. Anatomy of anuran tadpoles from lentic water bodies: systematic relevance and correlation with feeding habits. *Zootaxa* 1600: 1–175.

Vieira, W.L.S. & Arzabe, C. (2008) Descrição do girino de *Physalaemus cicada* (Anura: Leiuperidae). *Iheringia, Série Zoológica*, Porto Alegre, 98, 266–269

Weber, L. N., S. P. de Carvalho-e-Silva, and L. P. Gonzaga. 2005. The tadpole of *Physalaemus soaresi* Izecksohn, 1965 (Anura: Leptodactylidae), with comments on taxonomy, reproductive behavior, and vocalizations. *Zootaxa* 1072: 35–42.

Appendix 5. Photographs of species of *P. henselii* group, (A) *Physalaemus henselii*, (B) *Physalaemus fernandezae*, and from *Physalaemus riograndensis* in profile (C), ventral view (D) and couple (E), with male (left) and female (right). Photo credits: (A, C, D) M. D. Freire, (B) J. Iriberry, (E) F. S. P. R. Santos.



CAPÍTULO V

A new snouted three frog species of the *Scinax ruber* group (Anura: Hylidae) related to *Scinax granulatus* (Peters, 1871) from the Atlantic Forest of southern Brazil

Marcelo D. FREIRE^{1*}, Matias M. MALLERET^{1,2}, Estevão J. COMITTI³, Iberê F. MACHADO⁴, Arley CAMARGO², Laura VERRASTRO¹

¹ Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Programa de Pós Graduação em Biologia Animal – UFRGS;

² Programa de Desarrollo Universitario, Centro Universitario de Rivera, Universidad de la República – UdelaR, Rivera, Uruguay

³ Teiu Manejo de Fauna. Rua Irmãs Lauer, 25. Bom Retiro, Joinville SC. 89222-370

⁴ Instituto Boitatá de Etnobiologia e Conservação da Fauna, Goiânia, Brasil

* Corresponding author: mduartefreire@gmail.com

²Email: malleret2@gmail.com

³Email: estevaocomitti@gmail.com

⁴Email: iberemachado@gmail.com

⁵Email: arley.camargo@gmail.com

⁶Email: lauraver@ufrgs.br

Abstract. We describe a new species of *Scinax* from the Brazilian Atlantic Forest corresponding to one of the candidate species indicated in previous work of *Scinax granulatus* complex (*Scinax* sp. lineage D) by an integrative approach using morphology, morphometry of adult and tadpoles and advertisement calls. The new species differs from all known congeners by the combination of morphological attributes as moderate size (males 27.8–39.1 mm SVL), snout rounded in profile and rounded, slightly truncate at the tip in dorsal view, iris coloration brownish-golden with darker reticulations and a median black streak, advertisement call with a single pulsed note with 5–14 pulses, dominant frequency range of 1135–3617Hz and tadpoles with a well-developed keratinized spur on each side behind the lower jaw-sheath on oral disc. The new species is distributed in areas of the Atlantic Forest from the northeast region of the state of Rio Grande do Sul to the island of Florianópolis, in the east-central portion of the state of Santa Catarina, southern Brazil.

Key words: Mata Atlantica biome; Morphology, Taxonomy; Tadpoles; Advertisement call

Introduction

The Neotropical genus *Scinax* Wagler 1830 is composed of 130 described species of small to medium-sized treefrogs distributed from southern Mexico to central-eastern Argentina, including the Caribbean islands of Trinidad and Tobago, and Santa Lucia (Faivovich *et al.* 2005; Frost, 2023). Two major clades have been recognized within *Scinax*: the *S. catharinae* and the *S. ruber* clades (Faivovich 2002; Faivovich *et al.* 2005). The *S. catharinae* clade harbor currently 51 species distributed in *S. catharinae* group (38 species) and *S. perpusillus* group (13 species) (Lacerda *et al.* 2012; Lacerda *et al.* 2021). The *S. ruber* clade currently comprises 79 species, from which only 14 species are placed in the two recognized species groups: the *S. rostratus* (11 species) and the *S. uruguayus* groups (three species) with a large number of species (65 species) unassigned to any groups (Lima *et al.* 2004; Baldo *et al.* 2019; Araujo-Vieira *et al.* 2020; Chávez *et al.* 2023).

Scinax currently represents the most species-rich genus within Hyliinae and occupies major tropical and subtropical environments, with a high number of species in the Atlantic Rain Forest, followed by Cerrado and Amazonia biome (Pombal *et al.* 1995a; Faivovich, 2002; Nunes & Pombal 2011; Fouquet *et al.* 2007). Considering the species distribution in the genus in the Atlantic Forest region, 80 species are known to occur with 66 % (53 species) being endemic to the region (Rossa-Ferez *et al.* 2017; Lourenço *et al.* 2019; Lacerda *et al.* 2021; Novaes-Fagundes *et al.* 2021). That's the case for a great number of species in the *S. ruber* clade, including all known bromeliaceous species in the *S. perpusillus* group (Lacerda *et al.* 2012; Frost, 2023) and most species in the *S. catharinae* group, with some exceptions related to *S. aromothyella* and *S. berthae*, occurring southward to the Pampa biome, in southern Brazil, Argentina and Uruguay and some species with exclusive distribution on Cerrado biome (*e.g.*, *S. centralis*, Pombal and Bastos, 1996; *S. skaios*, Pombal *et al.* 2010; *S. goya*, Andrade *et al.* 2018).

The complex taxonomy of the genus *Scinax* can be considered an ongoing task that lacks a more comprehensive phylogenetic study (*e.g.*, Peixoto, 1987; Pombal & Gordo, 1991; Faivovich 2002, 2005; Duellmann *et al.* 2016; Araujo-Vieira *et al.* 2020). Over many decades of studies on *Scinax's* species some authors (*e.g.* Lutz, 1973; Pombal *et al.* 1995a; Faivovich *et al.* 2005; Silva & Alves-Silva, 2011; Araujo-Vieira *et al.* 2020) have highlighted the difficulty to correctly identify these treefrogs, suggesting some problems related to the knowledge within the genus: a) taxonomy of several species with similar

morphology and high intraspecific variation in coloration patterns and co-occurrence of related forms, causing problems in species diagnosis as some species representing cryptic species and species complexes (e.g., Lutz, B., 1973; Pombal *et al.* 1995a; Fouquet *et al.* 2007; Pugliese *et al.* 2009; Ferrão *et al.* 2016; Araujo-Vieira *et al.* 2020; Malleret *et al.* 2022), b) large number of species in scientific collections awaiting correct identification (Araujo-Vieira, 2015; Andrade *et al.* 2018; Lacerda *et al.* 2021), c) species richness considered to be highly underestimated (e.g., Fouquet *et al.* 2007; Ferrão *et al.* 2016; Menezes *et al.* 2016), d) lack of information on general geographic distribution, as some named taxa are only known from the type localities (e.g., *S. perpusillus* group; Silva & Silva, 2008; 2011), and e) some aspects of natural history (e.g., advertisement call), morphology (e.g., external and internal tadpole morphology) and genetic (e.g., karyotype) still lacking for many species and consequently, not disposable to be applied in phylogeny studies and hypotheses (e.g., Faivovich *et al.* 2005; Cardozo *et al.* 2011; Duellmann & Wiens, 2016; Guerra *et al.* 2018). Despite these, there is an increasing number of new species described in recent years (*e.i.*, 45 species described in the last two decades) (e.g., Nunes *et al.* 2012; Conte *et al.* 2016; Lourenço *et al.* 2016; Baldo *et al.* 2019; Novaes-Fagundes *et al.* 2021).

One of these species complexes is related to *Scinax granulatus* Peters, 1871, a case of longstanding confusing taxonomic species running since the original description that went through several nomenclatural changes (e.g., Klappenbach & Langone, 1992; Faivovich, 2002; Kwet, 2001; Fonte, 2010; Malleret *et al.* 2022). According to these and other studies, *S. granulatus* has been the object of an incorrect application of names of valid species (e.g. *Scinax (Hyla) catharinae*, *Scinax nasicus (Hyla nasica)*, *Boana pulchellus (H. pulchella)*, *Scinax fuscovarius (Hyla fuscovaria)*, *Scinax rubra (Hyla rubra)*, *Scinax (Hyla) x-signata*) as others that are currently synonyms (e.g. *Hyla vauerii*, *Hyla x-signata eringiophila*, *Hyla eringiophila*, *Hyla strigilata eringiophila*), with these names been applied to many populations throughout the southern portion of South America.

The previous study by Malleret *et al.* (2022), based on a large sample of *Scinax granulatus* populations, validated a candidate species through genetic data, monophyly, and ecological divergence using multiple analysis methods, and recognize a new species (*S. granulatus* lineage D) as a distinct lineage within the *S. granulatus* complex, associated with the Atlantic Forest of southern Brazil.

Herein, using Malleret's study as a starting point and based on the application of integrative taxonomy (Dayrat, 2005; Padial *et al.* 2010) on adult and tadpole morphology and acoustics, we describe a new species related to *Scinax granulatus* from Atlantic Forest from Rio Grande do Sul and Santa Catarina state, southern Brazil.

Material and methods

Field data collection

Specimens, vocalizations, and tadpoles of the new species were obtained from localities from the Atlantic Rain Forest biome in the northeast of state of Rio Grande do Sul and also in the southeast and south-central region in the state of Santa Catarina, in southern Brazil (see detailed locality and collecting data in the Species description section). Type specimens and additional examined specimens are housed in the following Brazilian zoological collections: Museu de Ciências Naturais da Secretaria do Meio Ambiente e Infraestrutura do Rio Grande do Sul (MCN), Coleção de Anfíbios e Répteis do Departamento de Zoologia da UFRGS (DZUFRGS), Centro de Coleções Taxonômicas, Universidade Federal de Minas Gerais (CCT-UFMG) and Célio F. B. Haddad Amphibian Collection, Universidade Estadual Paulista Campus de Rio Claro, Rio Claro, SP (CFBH).

Adult morphology

Adult specimens were collected by active search of calling males, euthanized with 10% lidocaine, fixed in 10% formalin, and preserved in 70% ethanol. We measured 18 morphometric traits, of which ten follow Duellman (1970): snout-vent length (SVL), head length (HL), head width (HW), internarial distance (IND), interorbital distance (IOD), eye diameter (ED), tympanum diameter (TD), upper eyelid width (UEW), eye-nostril distance (END), snout length (SL), tibia length (TBL), foot length (FL); four follow Heyer *et al.* (1990): forearm length (FR), hand length (HL), thigh length (THL) and nostril to tip of snout distance (NSD). Additionally, two measurements follow Napoli & Caramaschi (1998): third finger disk diameter (3FD) and fourth toe disk diameter (4TD). Specimens were examined and measured to the nearest 0.1 millimeters using a micrometric ocular fitted in a stereoscopic microscope (Motic SMZ 168 TL), except SVL, measured using digital calipers. Webbing formula follows Savage & Heyer (1967) as modified by Myers & Duellman (1982). Dorsal and profile outline standards of snout shape follow Heyer *et al.* (1990). Sex was determined by direct examination of gonads,

nuptial pads, and vocal slits. Color patterns of specimens in life were based on photographs taken in the field or under laboratory conditions. For the description of skin texture and general morphological structures, we followed Lynch & Duellman (1997) and Kok & Kalamandeen (2008). Additionally, we followed Luna *et al.* (2018) for the terminology of nuptial pads.

Specimens of the genus *Scinax* used for morphological comparisons are listed in Appendix 1 and morphological comparisons were based on the literature, both original species descriptions and other studies.

Bioacoustic analysis

Recorded voucher specimens are housed in the following Brazilian zoological collections: Museu de Ciências Naturais da Secretaria do Meio Ambiente e Infraestrutura do Rio Grande do Sul (MCN), Coleção de Anfíbios e Répteis do Departamento de Zoologia da UFRGS (DZUFRGS), and Centro de Coleções Taxonômicas, Universidade Federal de Minas Gerais (CCT-UFMG). Call recordings were deposited at Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard (FNJV).

Fieldwork was conducted in 2017, 2018, 2019 and 2020 in different sites at states of Rio Grande do Sul and Santa Catarina, southern Brazil, with information on specimens and recordings of the new species as follows: State of Rio Grande do Sul, municipality of Itatí, Parque Estadual da Mata Paludosa (-29.511.675 S, -50.109.397 W; datum WGS 84), 21 October 2017, collected and recorded by M. D. Freire, one male specimen unvouchered; municipality of Torres, Parque Estadual de Itapeva (-29.346.844 S, -49.765.531 W; 12 m a.s.l.; datum WGS 84), 6 November 2019; collected and recorded by P. Colombo, one male (MCN 14410/FNJV 50537); municipality of Capão da Canoa (-29.652.177 S, -50.000.047 W; datum WGS 84), 26 September 2020, collected and recorded by M. D. Freire and M. M. Malleret, three males under accession numbers (UFRGS 7594/FNJV 5533; UFRGS 7595/FNJV 55034; UFRGS 7596 /FNJV 50535); State of Santa Catarina, municipality of Balneário Arroio do Silva (-29.021772 S, -49.484261 W; datum WGS 84), 12 September 2018, collected and recorded by E. Comitti, three males under accession numbers (UFMG 21051/FNJV 50538; UFMG 21052/FNJV 50529; UFMG 21053/FNJV 50540).

For recordings we use digital recorders Sony PCM-M10 set at sampling rates of 44.1 or 48.0 kHz and resolutions of 16 bits (mono WAVE file format) coupled to Sennheiser

K6/ME66 (Microtrack) directional microphones, Zoom H1 built-in microphone set at 96 kHz and 24 bit and Tascam DR-07 mkII built-in microphone set at 44.1 kHz and 16 bits. Air temperatures were measured with a digital thermometer after vocalizations were recorded for a maximum of 3 min.

Calls were analyzed using Raven Pro 1.5 (<http://www.birds.cornell.edu/raven>) with the following settings: window type = Hann, window size = 256 samples; 3 dB filter bandwidth = 248 or 270 Hz; overlap (locked) = 85 or 90%; hop size = 0.54, 0.59 or 0.79 ms, DFT size = 1024 samples, grid spacing = 43.1 or 46.9 Hz. All other settings followed the software default settings. The sound figures were made using the Seewave package (version 1.7.6; Sueur *et al.* 2008) in R software (version 3.1.2; R Core Team 2021).

We followed the acoustic terminology adopted by Carvalho *et al.* (2015) and Kohler *et al.* (2017), as follows: Call duration (ms), Number of pulses (pulses/sec.), Call rate (calls/minute), Interval between calls, Pulse duration (ms) including first, middle and last pulses measurements, Pulse interval (ms), Pulse rate (pulses/sec.), Maximum Frequency (kHz), Minimum Frequency (kHz) and Dominant frequency (kHz). Temporal traits were measured from oscillograms and spectral traits as lower and higher bands of emphasized frequency were obtained from spectrograms. The measurement of the dominant frequency was obtained through “Peak Frequency” measurement function. We also follow Bilate and Lack (2011) to characterize the call duration as short (up to ~ 350 ms) and long (> 350 ms) calls.

Larval morphology

During the breeding season of the new species (September 2019), a couple in amplexus (MCN 14413, female; MCN 14414, male) were collected in the field and transported to the laboratory for the observation of the development of eggs and tadpoles. Tadpoles (N = 32) at stages from 32 to 38 (Gosner, 1960) were euthanized and preserved in 5% formaldehyde. Morphological traits were examined and measured to the nearest 0.1 millimeters using a micrometric ocular fitted in a stereoscopic microscope (Motic SMZ 168 TL). The terminology and measurements used for the description of the tadpole included 22 morphometric traits according to multiple references, as follows: (1) Altig & McDiarmid (1999): total length (TL), body length (BL), tail length (TAL), tail musculature height (TMH), maximum tail height (MTH), internarial distance (IND), interorbital distance (IOD), and tail musculature width (TMW); (2) Lavilla & Scrocchi (1986): body maximum width (BMW), body width at nostrils level (BWN), body width

at eye level (BWE), body maximum height (BMH), rostrum-spiracular distance (RSD), fronto-nasal distance (FN), eye-nostril distance (END), nostril major axis (N), eye-snout distance (ESD), eye diameter (E), oral disc width (OD) and dorsal gap length (DG); (3) Grosjean (2005): dorsal fin height (DFH) and ventral fin height (VFH). Additionally, we take the dorsal fin insertion angle (DFIA *sensu* Pezzuti *et al.* 2021) measurement from a photograph analyzed in the Image J program. Measurements are reported as mean \pm SD, range values (min-max). Proportions of morphometric measurements follow Pezzuti *et al.* (2021). Photographs of the specimen (stage 38) in dorsal, lateral, and ventral views, and oral disc structures were taken using a stereoscopic microscope (Zeiss Standart AXiostar) with a digital camera (Canon A620 Dc capture). Morphological comparisons of the tadpole of the new species with those of original species descriptions of congeners were based on the available literature and/or other studies.

Tadpoles of the new species are housed at Museu de Ciências Naturais da Secretaria do Meio Ambiente e Infraestrutura do Rio Grande do Sul (MCN).

Analysis and comparisons of *Scinax* sp. nov. with related species of *Scinax ruber* group: morphometry of adult and tadpoles and acoustic attributes

Some species of *Scinax* from the *ruber* clade (*sensu* Faivovich, 2002) co-occur or potentially may occur in sympatry along Mata Atlântica and Pampa environments in the states of Rio Grande do Sul and Santa Catarina with *Scinax* **sp. nov.** (*Scinax granulatus*, *S. fuscovarius*, *S. perereca* and *S. nasicus*) (Cei, 1980; Pombal *et al.* 1995a; Kwet, 2001) and are considered closely related. These species show similar morphology and advertisement call features and therefore, ideally warrant a more detailed investigation. In this sense, we analyze the morphology throughout morphometry of *i*) adults, *ii*) tadpoles (only *Scinax* **sp. nov.** and *S. granulatus*), and *iii*) advertisement call attributes of these species, with an acoustic dataset considering topotypical material for some species. We perform comparisons and analysis of the morphological traits of males of the new species with these *Scinax*'s species closely related, considering *S. granulatus* as the species with the greatest morphological similarity to *S. sp. nov.* (see Malleret *et al.* 2022, for species delimitation). We measured 18 morphological traits of adult males, considering sample material of *Scinax granulatus* (n=33 individuals), including topotype populations (Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil), and also *S. fuscovarius* (n=10), *S.*

perereca (n=16) and *S. nasicus* (n=13) from populations of Rio Grande do Sul and Santa Catarina state,

Initially, we removed the allometric size effect from all morphometric data, following Leonart *et al.* (2000), with modifications. All variables were log₁₀-transformed, and then we made a Principal Component Analysis (PCA) to find a proxy for body size (*i.e.*, the variable with the highest loading value from the first principal component). The residuals of the regression of the variables against proxies were used instead of the original variables for subsequent analyses using morphometric data (Leonart *et al.* 2000). We also tested the univariate normality for the residuals. We used the PC1 scores as a proxy for the adult morphology dataset and discarded the ED, IND, END and SL measures of the adult dataset. Linear Discriminant Analyses (LDA) with morphometric data were used to assess the probability of each individual being correctly assigned to its respective group and to identify the characters that better diagnose and differentiate the new species from those related species used for comparisons. We plotted the LDAs analyses using R packages ‘*MASS*’ (Venables & Ripley, 2002) and ‘*ggplot2*’ (Wickham, 2016), and the confusion matrix was obtained with PAST 3.25 (Hammer *et al.* 1999). We performed PERMANOVA test to evaluate if there were differences among species for the adult morphology dataset (*S. granulatus*, *S. fuscovarius*, *S. perereca*, *S. nasicus* and *S. sp. nov.*) based on the Euclidean similarity index with 1×10^4 permutation and a sequential Bonferroni correction for an adjusted *p*-value of 5%. The supplementary material (Table S1, Table S2 and Table S3) contains all the results/analysis for LDA, confusion matrix and PERMANOVA values, respectively.

For acoustic comparison purposes, we used audio data files from FNJV for *S. perereca* (type-locality; Ribeirão Branco, São Paulo state, FNJV 0011885) and *S. fuscovarius* (Viçosa, Minas Gerais State; FNJV 0031378). Recordings from topotypes populations of *S. granulatus* (n=two males) were gathered (Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Brazil) and for *S. nasicus* from the Fonoteca Zoológica de la Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina (Mariano Roque Alonso; Paraguay; FZ-UNNE 0780) through the collaboration of Vitor Zaracho. We made comparisons and analysis of acoustic data from advertisement calls of males of the new species with these four closely related species to investigate the similarity or differences in call traits seeking diagnostic call features on temporal and spectral acoustic variables between them. See Appendix 2 for calls attributes of *Scinax* species analyzed, and

Supplementary Material Figure S1 for spectrogram and oscillogram of the advertisement call and Figure S2 for photos of adult males of these species.

We performed the PCA (Principal Component Analysis) with the call traits that showed more usefulness for taxonomy studies and could help to differentiate among the different taxa, which usually vary between species and are regarded as static inside them (Kohler *et al.* 2017). Then, we performed a PERMANOVA test to assess if the ‘species’ predictor would explain the variance of the data observed on the PCA. PCA was executed with the R packages ‘FactoMineR’ (Lê *et al.* 2008), ‘factoextra’ (Kassambara & Mundt, 2017) and ‘ggplot2’ (Wickham, 2016) in R v.4.0.5 (R Development Core Team, 2021), and PERMANOVA statistics was obtained with PAST 3.25 (Hammer *et al.* 1999). The supplementary material (Table S6 and Table S7) contains all the results/analyses for PCA and PERMANOVA values, respectively.

To investigate the degree of morphological differentiation among tadpoles of the new species and the most similar species *S. granulatus*, we obtain material from type-locality (Fundação Zoobotânica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul; n=21 tadpoles; stages of 28 – 38, Gosner, 1960), for comparison and selection of characters that better diagnose and differentiated both species, performing analysis of the external morphology of the 22 morphometric traits. We apply the same procedure as for data treatment for adults in tadpole dataset, removing the allometric size effect from all morphometric data, log10-transformed variables to use Principal Component Analysis (PCA) to find a proxy for body size. The residuals of the regression of the variables against proxies were used instead of the original variables for subsequent analyses using morphometric data (Lleonart *et al.* 2000) and previously, we tested the univariate normality for the residuals. We selected the VFH (ventral fin height) measure as a proxy for the tadpole morphology dataset and discarded BL, BWN, TMW, FN, EN, and IND measures of the tadpole morphology dataset. Linear Discriminant Analyses (LDA) with morphometric data were used to assess the probability of each individual being correctly assigned to its respective species. We plotted the LDAs analyses using R packages ‘MASS’ (Venables & Ripley, 2002) and ‘ggplot2’ (Wickham, 2016), and the confusion matrix was obtained with PAST 3.25 (Hammer *et al.* 1999). We performed PERMANOVA test to evaluate if there were differences among species for the tadpole dataset (*S. sp. nov.* and *S. granulatus*) based on the Euclidean similarity index with 1×10^4 permutation and a sequential Bonferroni correction for an adjusted *p*-value of 5%.

The supplementary material (Table S1, Table S4 and Table S5) contains all the results/analysis for LDA, confusion matrix and PEMANOVA values, respectively.

Results

Class Amphibia Gray, 1825
Order Anura Fischer Von Waldheim, 1813
Family Hylidae Rafinesque, 1815
Subfamily Hyliinae Rafinesque, 1815
Genus *Scinax* Wagler, 1830

Scinax **XXXX** sp. nov. (Figures 1 to 6, 10; Table 1)

Scinax fuscovarius – Colombo *et al.* 2008, (in part): Figure 2.9

Scinax granulatus – Wachlevski & Rocha. 2010, (in part): Figure 2b

Scinax sp. Lineage D – Malleret *et al.* 2022, (in part): 1, 8 - 10, 12 – 13 pg., Figure 1 and 2, Figure 3d, Figure 4bii and cii

Holotype

Brazil. 1 adult male; state of Rio Grande do Sul, municipality of Torres, Parque Estadual de Itapeva; -29.346.844 S, -49.765.531 W; 12 m a.s.l.; datum WGS 84; 23 March 2001; A. Kindel, P. Colombo, G. Vinciprova, B. Forte and L. Diel; **UFRGS 2061**.

Paratypes

Brazil; 2 adult males; same collecting data as for the holotype; 23 March 2001; P. Colombo and J. Cerveira; UFRGS 2062, 2063. 4 adult males; MCN 14410 – 14412, 14414, 14415 and one adult female; MCN 14413; same locality for the holotype; 6 November 2019; B. R. Campanher. M. E. Bernardino Cunha, P. C. Barth and P. Colombo.

Additional material examined

Brazil; 1 adult male; state of Rio Grande do Sul, municipality of Itatí; -29.510917 S, -50.108683; 24 January 1997; G. Vinciprova; UFRGS 1728. 2 adult males; UFRGS 7594, UFRGS 7595; state of Rio Grande do Sul, municipality of Capão da Canoa; -29.652.177

S, -50.000.047 W; 26 September 2020; M. D. Freire and M. M. Malleret. 2 adult males; UFRGS 7591, UFRGS 7592; state of Santa Catarina, municipality of Balneário Arroio do Silva; -29.018.035 S, -49.507.438 W; 20 September 2019; M. D. Freire, V. Santos, and M. M. Malleret. 1 adult male; state of Santa Catarina; municipality of Balneário Gaivota; -29.163039 S, -49.621890 W; 16 July 2020; L. F. Ugioni; (UFRGS 7593). 1 adult male; CFBH 9849; state of Santa Catarina, municipality of Treviso; -28.518.485 S, -49.455.933 W; 20 August 2005; A. P. Antunes; 2 adult males; UFRGS 4130, UFRGS 4131; state of Santa Catarina, Imbituba, Praia da Vila, Morro do Farol; -28.943.569 S, -49.369.222 W; 20 August 2009; T. Kunz. 2 adult males; UFRGS 6610, UFRGS 6617; state of Santa Catarina, municipality of Siderópolis; -28.595102 S, -49.420541 W; October 2011; T. Kunz. 4 adult males; CFBH 40194 – 40197; state of Santa Catarina, municipality of Florianópolis, Lagoa do Sufoco; -27.653.681 S, -48.477.128 W; 21 November 2015; P. H. Silva and L. B. S. Arruda.

Diagnosis

Scinax **sp. nov.** is a member of the *S. ruber* clade (*sensu* Faivovich *et al.* 2005), and is diagnosed by the following combination of characters: 1) moderate size (males 27.8–39.1 mm SVL); 2) dorsal color pattern composed of *i*) two elongated, concave, irregular dark brown spots in the scapular region and other *ii*) two parallel, rounded brown spots in the sacral region and an *iii*) inverted triangle of brown to dark-brown blotch in the interocular region on a brown to the yellowish-cream background; 3) snout rounded in profile and rounded, slightly truncate at the tip in dorsal view; 4) iris coloration brownish-golden with darker reticulations and a median black streak; 5) advertisement call with a single pulsed note; 6) one note with 5–14 pulses per note; 7) calls duration of 0.13–0.34 s; 8) dominant frequency range of 1135–3617Hz; 9) tadpoles with the oral disc in anteroventral position; 10) tadpoles with eyes in lateral position; 11) oral apparatus with labial teeth P3 placed within the oral disc; 12) oral disc with P3 with a similar length to P1 and P2; 13) oral disc with presence of a well-developed keratinized spur on each side behind the lower jaw-sheath; 14) tadpoles with oral disc with absence of colored keratinized plates on the sides of the lower jaw-sheath.

Comparison with other species

The SVL in males of *Scinax* **sp. nov.** (27.8–39.1 mm, $n = 13$) (1) distinguishes it from the larger species like *S. castroviejo* (male holotype 45.0 mm; De la Riva, 1993), *S. eurydice* (SVL males 44–52 mm, Bokermann, 1968) and *S. fuscovarius* (41.0–44.0; Cei 1980) and

from the smaller species like *S. altae* (21.7–26.0; Duellman, 1970), *S. auratus* (21.4–24.7 mm; Nunes & Pombal, 2011), *S. cabralensis* (22.5–25.0 mm; Drummond *et al.* 2007), *S. cardosoi* (SVL 19.6–23.2 mm; Carvalho e Silva & Peixoto, 1991), *S. cruentommus* (24.8–27.1; Duellman & Wiens, 1993), *S. cuspidatus* (22.1–24.9 mm; Lutz, 1973; Nunes & Pombal, 2011), *S. exiguus* (18.0–20.8; Duellman, 1986), *S. danae* (24.5– 27.4 mm; Duellman, 1986), *S. fuscomarginatus* (17.1–22.0 mm; Brusquetti *et al.* 2014), *S. juncae* (23.0–27.1 mm; Nunes & Pombal, 2010), *S. madeirae* (18.0–23.5; Brusquetti *et al.* 2014), *S. maracaya* (26.7–28.0 mm; Cardoso & Sazima 1980), *S. parkeri* (21.0–22.6 mm; De la Riva, 1994), *S. rupestris* (21.9–27.7; Araujo-Vieira *et al.* 2015), *S. tymbamirim* (20.6–27.4 mm; Nunes *et al.* 2012), *S. villasboasi* (16.7– 20.0; Brusquetti *et al.* 2014), and *S. wandae* (23.4–26.9; Pyburn & Fouquette, 1971).

The dorsal color pattern of *Scinax* **sp. nov.** (2) consists of two elongated, irregular parentheses-like, concave dark brown spots in the scapular region, other two parallel rounded or irregular brown spots in the sacral region, and an inverted triangle of brown to dark-brown blotch in the interocular region on a brown to the yellowish-cream background, that could differentiate it from species with light coloration stripes on dorsum and interocular marking like *S. imbegue* (when present dorsolateral white stripe on both side of dorsum border by internal and external dark brown stripes in light brownish background coloration), *S. tymbamirim* (two poorly defined dorsolateral white stripes and an interocular blotch pentagon-shape surrounded by a yellowish contour in a light brown, dark brown or greenish-grey background), *S. auratus* (two longitudinal dorsolateral lines, and a longitudinal sacral line golden colored in brown-yellowish or yellow-greenish background), *S. cretatus* (two dorsolateral white stripes in dark-brown background with interocular white transversal stripe), *S. juncae* (dorsolateral yellowish stripes in darker greenish-brown background with interocular yellow transversal stripe), *S. squalirostris* (two white lines bordered by a narrow dark band, from the snout, through eyes to the insertion of the shank in a light or dark brown, yellowish- brown or orange tones dorsal coloration). Also, the new species differ from some species with dark longitudinal stripes pattern on the dorsum (absent in *S. sp. nov.*) as known in *S. alter* (two pairs of longitudinal dark brown stripes with a light beige in the middle of dorsum in a olivaceous brown background) and *S. cuspidatus* (two brown irregular stripes or inverted parenthesis on thoracic region in a olivaceous-greenish background) (Bokermann 1969; Lutz 1973; Cei, 1980; Nunes & Pombal 2010; 2011; Nunes *et al.* 2012). The presence of a continuous or broken longitudinal striped pattern in some species, absent *S. sp. nov.*

could distinguished it from *S. caldarum*, *S. curicica*, and *S. duartei* (two irregular longitudinal stripes fused with the interocular marking), *S. rogerioi* (two longitudinal interrupted and irregular stripes from the posterior corner of the eye to the inguinal region and presence of dark brown blotches irregularly distributed). The dorsal pattern with the presence of blotches or spots of different sizes and coloration differentiate the new species (absent in *S. sp. nov.*) from *S. cropesdospilus* (dorsum with large to medium size light to dark brown irregular blotches bordered by a light edge coloration), *S. rupestris* (small round and irregular dark-brown blotches on a dark brown-olivaceous background), *S. maracaya* (dorsum covered by large dark blotches), *S. tigrinus* (numerous brown blotches with irregular shape on dorsum in a beige background), *S. cabralensis* (small dark spots homogeneously distributed on dorsum), *S. tropicalia* (dorsum gray to brown with, irregular, small to medium size dark brown blotches, two longitudinal stripes usually from the post-orbital to sacral regions and interocular region with a dark brown irregular geometric marking) (Pugliese *et al.* 2004 ; Heyer *et al.* 1990; Araujo-Vieira *et al.* 2015; Cardoso & Sazima 1980; Nunes *et al.* 2010; Drummond *et al.* 2007 ; Novaes-Fagundes *et al.* 2021). Considering species of the clade *Scinax ruber* with distribution in the Amazon region, Andes and Central America, the new species could be distinguished from species with dorsal pattern of blotches, dots and spots on dorsum (absent in *S. sp. nov.*) from *S. danae* (dorsum brown with small dark brown dots scattered), *S. elaeochrous* (faintly darker dorsal markings in a pale yellow or yellowish tan background), *S. boesemani* (scattered light dots and few small black or brown spots on greenish or reddish brown background), *S. chiquitanus* (when present, dark brown or grayish small and diffuse blotches and marks on yellowish golden to orange background), *S. iquitorum* (small round dark-gray or dark brown dots randomly distributed on dorsum on a light olive-green to brown background), *S. onca* (round dark brown spots on the head and body and irregular dark brown spot in scapular region and belly yellowish with round dark brown spots on a light brown background), *S. sateremawe* (dorsum gray with large dark-gray blotches and small light-gray spots) *S. strussmannae* (light-brown spots, darker over the snout and eyelids an irregular light-brown spot on the interorbital region in a yellowish-bronze background coloration), *S. ruberuculatus* (large brown or grey irregular spot on the head and scapular region in a light grey or light brown background) and *S. funereus* (dark brown markings as a interorbital bar, pair of elongate marks in scapular and sacral regions and presence of spots on head, body, and limbs in a pale green or greenish tan background)(Duellman 1970; Duellman, 1986; Duellman & Wiens, 1993;

Lescure & Marty 2000; Duellman and Pyles 1983; De la Riva 1994; Moravec *et al.* 2009; Sturaro & Peloso, 2014; Ferrão *et al.* 2017; Ferrão *et al.* 2018a). Now, comparing the dorsal pattern of *S. sp. nov.* with those species with great morphological similarity (*S. fuscovarius*, *S. granulatus*, *S. perereca* and *S. nasicus*), the new species could be differentiated from *S. fuscovarius* (brown to grey background coloration without parallel brown spots in the sacral region and interocular region with “Y” irregular marking), *S. perereca* (dorsum greenish-yellow with dark gray spots on dorsum in life), *S. granulatus* (brown to grey background coloration with scattered small irregular spots on sacral region) and *S. nasicus* (light-brown, yellowish to grey background with interocular region with two small brown blotches or a transverse bar). *S. sp. nov.* shows a marked dorsolateral and longitudinal dark brown stripe, from behind the nostril aperture in *canthus rostralis*, through eyes (coincident with the black streak in the iris), through the upper margin of tympanum, ending near the axillae on flanks, that distinguished it from *S. granulatus*, *S. fuscovarius* and *S. perereca* (dorsolateral dark brown stripe when present ending behind the tympanum). *S. sp. nov.* have the inguinal region, anterior and posterior surfaces of thighs and hidden portion of shanks with irregular brown spots under yellowish to cream background coloration, differentiating from *S. fuscovarius* and *S. perereca* (surfaces of thighs and hidden portions of the shank with yellow flash color on black or dark brown background). *Scinax sp. nov.* also shows a white or cream-marked band in the upper lip, from the level of the eye in the anterior position, ending in contact with the tympanum, that distinguished it from *S. fuscovarius* (absent) and *S. granulatus* (less evident) (Lutz, 1973; Cei, 1980; Kwet, 2001; Fonte, 2010).

The snout rounded in profile and rounded, slightly truncated at the tip in dorsal view (3) differentiates the *Scinax sp. nov.* from *S. camposseabrai* (rounded in dorsal view and subacuminate in profile; Drumond *et al.* 2007), *S. crospeospilus* (elongate in dorsal view and slightly acute in profile; Lutz, 1973), *S. fuscomarginatus* (subelliptical in dorsal view and protruding in profile; Brusquetti *et al.* 2014), *S. fuscovarius* (round and acute in dorsal view and protruding in profile; Cei, 1980), *S. juncae* (rounded in dorsal view and protruding in profile; Nunes & Pombal, 2010), *S. perereca* (subacuminate in dorsal view and nearly rounded in profile; Pombal *et al.* 1995b), *Scinax rossaferesae* (subovoid in dorsal view and slightly acuminate in profile; Conte *et al.* 2016), *S. squalirostris* (pointed dorsal view and protruding in profile; Lutz, 1973), *S. tigrinus* (oval in dorsal view and acuminate in profile; Nunes *et al.* 2010). Also, from *S. alter*, *S. imbegue*, and *S.*

tymbamirim (sub-elliptical with a pointed tip in dorsal view and slightly acute in profile; Nunes *et al.* 2012), *S. rogerioi* and *S. auratus* (subovoid in dorsal view and protruding in profile; Lutz, 1973; Pugliese *et al.* 2009), and from *S. caldarum*, *S. curicica*, *S. duartei*, *S. maracaya*, (sub-elliptical or subovoid in dorsal view and slightly acute in profile; Cardoso & Sazima, 1980 Pugliese *et al.* 2004; Lutz, 1973). From all species in the *Scinax rostratus* group, the new species differentiates by snout elongate pointed in dorsal view and in profile, acute snout sometimes presenting a proboscis in these species (Duellman, 1972a; Faivovich, 2002; Lopes *et al.* 2019).

The presence of a brownish-golden iris with darker reticulations and a median black streak (4) could differentiate *Scinax sp. nov.* from *Scinax alter*, *S. tymbamirim* and *S. imbegue* (iris brownish beige; Nunes *et al.* 2012), *S. cruentomma* (silvery bronze iris, with a median red streak; Duellman *et al.* 1972b), *S. funereus* (greenish bronze with brown flecks; Duellman & Wiens, 1993), *S. oreites* (dull bronze with median horizontal brown streak; Duellman & Wiens, 1993), *Scinax rossaferesae* (yellowish gold iris, with many dark reticulations; Conte *et al.* 2016), *S. ruberoculatus* (reddish upper half and grey lower half; Ferrão *et al.* 2018), *S. sateremawe* (upper part of iris golden, lower part silver; Sturaro & Peloso, 2014), and *Scinax x-signatus* (yellowish golden or bronze iris, with a median black streak; Araujo-Vieira *et al.* 2020). From the species of the *S. uruguayus* species group (*S. fontanorossai*, *S. pinima* and *S. uruguayus*; Baldo *et al.* 2019), the new species differs from a bicolored iris, golden coloration on upper half and dark brown to black on the lower half of these species.

The advertisement call of the *Scinax sp. nov.* (5) is composed of a single pulsed note and differs from *S. cabralensis* (n=6–9 notes; Drummond *et al.* 2007), *S. canastrensis* (n=6–7; Cardoso & Haddad, 1982), *S. crosopedopilus* (n=5–7; Heyer *et al.* 1990), *S. fuscovarius* (n=9–10; Pombal *et al.* 1995b), *S. hayii* (n=15–20; Heyer *et al.* 1990; Santos & Martins, 2017), *S. machadoi* (n=6–7; Bokermann & Sazima, 1973), *S. rupestris* (n=8–14; Araujo-Vieira *et al.* 2015) and *S. squalirostris* (n=11–13; Pombal *et al.* 1995b).

The call of *S. sp. nov.* has a duration of 0.13–0.34 s (6) which differentiates from *S. eurydice* (0.09–0.11 s; Pombal *et al.* 1995b), *S. nasicus* (0.042–0.098 s; De la Riva *et al.* 1994), *S. squalirostris* (0.54–0.68 s; Pombal *et al.* 1995b), *S. chiquitanus* (0.08–0.010 s; Duellman & Wiens, 1993), *S. cruentommus* (0.35–0.37s; Duellman, 1972b), *S. ictericus* (0.07–0.09 s; Duellman & Wiens, 1993), *S. lindsayi* (0.08–0.010s; Pyburn, 1992), *S. madeira* (0.72–1.16 s; Brusqueti *et al.* 2014), *S. caldarum* (0.005–0.015 s; Magrini *et al.*

2011) and *S. tymbamirim* (0.63-0.76 s; Pombal *et al.* 1995b as *Hyla fuscomarginata*). The lesser number of pulses per note (n=5-14) (7) also distinguishes *Scinax sp. nov.* from *S. alter* (n=29–152; Pombal *et al.* 1995b), *S. curicica* (n=29–43; Pugliese *et al.* 2004), *S. fuscomarginatus* (n=85–104; Toledo & Haddad 2005), *S. pachycrus* (n=17–32; Carneiro *et al.* 2004), *S. parkeri* (17–21; De La Riva *et al.* 1994), *S. perereca* (n=21–24; Pombal *et al.* 1995a) and *S. tymbamirim* (n=85-104; Pombal *et al.* 1995b as *Hyla fuscomarginata*).

The dominant frequency (1125–3617 Hz) (8) of *Scinax sp. nov.* is lower than in *S. auratus* (4000 – 4350 Hz; Nunes *et al.* 2007), *S. baumgardneri* (4100– 4600 Hz; Duellman, 1972b), *S. cabralensis* (3700–4220 Hz; Drummond *et al.* 2007), *S. exiguus* (4000–4800; Duellman, 1986), *S. fuscomarginatus* (4100–4700 kHz; Toledo & Haddad, 2005), *S. madeirae* (3100–5672 Hz; Brusquetti *et al.* 2014); *S. pachycrus* (4130–4780 Hz; Novaes-e-Fagundes & Zina, 2016), *S. staufferi* (3950–4350 Hz; Fouquette, 1966), *S. squalirostris* (3900–4600 kHz; Pombal *et al.* 1995b), *S. tymbamirim* (4000–4300 Hz; Nunes *et al.* 2012), *S. wandae* (4800–5050 Hz; Duellman, 1986) and higher than in *S. camposeabrai* (730–900 Hz; Novaes-e-Fagundes & Zina, 2016) and *S. nasicus* (848–1110 Hz; De La Riva *et al.* 1994). Also, the new species could be distinguished from those species in the *Scinax uruguayus* group by a higher dominant frequency in *S. fontanarossai* (5513–6159 Hz), *S. pinima* (3919-4479 Hz) and *S. uruguayus* (3805–4651 Hz) (Baldo *et al.* 2019).

The anteroventral oral disc position (9) could differentiate *Scinax sp. nov.* tadpoles from species with terminal (*S. acuminatus* and the *S. rostratus* group, Faivovich, 2002) and ventral oral disc (*S. fuscomarginatus*, *S. ictericus*, *S. ruberoculatus*, *S. rupestris*, and *S. wandae* (Faivovich, 2002; Lynch & Suárez Mayorga 2011; Araujo-Vieira *et al.* 2015; Ferrão *et al.* 2018b).

The tadpoles of *S. sp. nov.* have eyes in the lateral position (10), the most common condition in *S. ruber* clade, that differs from *S. rupestris* and *S. ictericus* (dorsolateral eyes; Faivovich, 2002; Araujo-Vieira *et al.* 2015).

The absence of colored keratinized plaques (11) on the sides of the mandible sheath in mouthparts of tadpoles in *Scinax sp. nov.* differ from tadpoles of *S. camposeabrai* (Barreto *et al.* 2019) and those species of the *S. uruguayus* group (*S. fontanarossai*, *S. pinima* and *S. uruguayus*) (Faivovich, 2002; Kolenc *et al.* 2003; Alcade *et al.* 2011). Also, these species have an enlarged marginal papilla on the posterior margin of the oral disc,

a strong and developed lower jaw sheath and large marginal papillae in the mental region, with all these characters absent in tadpoles of *S. sp. nov.*

Additionally, the new species have the labial teeth P3 (12) placed inside the oral disc and could be differentiated from *S. auratus*, *S. constrictus*, *S. crospeospilus*, *S. cuspidatus* and *S. juncae*, and species of the *S. rostratus* group (P3 as a labial arm; e.g., Heyer *et al.* 1990; Alves & Carvalho-e-Silva 2002; Faivovich 2002; Alves *et al.* 2004; Mercês & Juncá, 2012; Gomes *et al.* 2014; Santos *et al.* 2019). In relation to the length of the labial teeth P1, P2 and P3 in oral disc (13), *Scinax sp. nov.* have P3 with a similar length with P1 and P2, and could be distinguished from *S. alter*, *S. montivagus*, and *S. pachycrus* (P3 with smaller length than P1 and P2; Alves & Carvalho-e-Silva 2002; Carneiro *et al.* 2004; Juncá *et al.* 2015).

The absence of colored keratinized plaques on the sides of the mandible sheath (14) in mouthparts of tadpoles in *Scinax sp. nov.* differ from tadpoles of *S. camposeabrai* (Barreto *et al.* 2019) and those species of the *S. uruguayus* group (*S. fontanarossai*, *S. pinima* and *S. uruguayus*) (Faivovich, 2002; Kolenc *et al.* 2003; Alcade *et al.* 2011), the only species that have this character in *S. ruber* clade.

Description

Holotype (UFRGS 2061)

Description of holotype

Body mid-sized, moderately robust; head as long as wide; HL 34% of SVL and HW 31% of SVL (Fig. 1A, 2A, 2B, 3A). Snout rounded in profile, and rounded, slightly truncated at the tip in dorsal view and slightly protruding. Nostril dorsolateral, oval, protruding; IND 58% of IOD; *Canthus rostralis* marked, convex. Loreal region slightly concave. Eyes large, protuberant, ED 73% of IOD; ED almost equal END (91% of END). Pupil horizontal, subelliptical. Tympanum rounded, separated from eye by a distance more than half TD; TD 67% of ED (Fig. 3A). Tympanic annulus present, rounded with upper portion hidden by supratympanic fold. Supratympanic fold evident, from the posterior upper portion of the tympanum to the insertion of the forearm. Pectoral fold present, with pre and postaxillar elements. Vocal sac subgular, weakly bilobate, externally evident by the loose skin and ventrally not reaching the pectoral fold (Fig. 1B, 3C). Vocal slits present, located parallel and slightly diagonal on mouth floor, originating laterally to the tongue

and running towards the corner of the mouth. Tongue large, cordiform, free laterally and slightly notched posteriorly. Vomerine teeth in two convex series closer to each other, below to the choanae with seven to nine teeth; choanae oval.

Axillary membrane absent. Upper arm slightly robust, smaller than forearm; forearm slender, with a series of small, flat, ulnar tubercle (four to five in row). Fingers short and slender, fringed; relative fingers length $I < II < IV > III$. Disc elliptical, larger than long, disc I smaller than the others, disc finger II and IV same size; disc IV larger than others. Subarticular tubercle small, single, conical on finger I and II and rounded and flat on fingers III and IV (Fig. 2A). Supranumerary tubercle small, single and rounded. Inner metacarpal tubercle elliptical and larger than outer metacarpal tubercle; outer divided. Webbing absent between fingers I and II; basal between fingers II, III, IV. Slightly thickened, light-colored nuptial pad, covering Metacarpal II dorsomedially, and ventrally extending from the base of inner metacarpal tubercle.

Hindlimbs robust; TL 49.0% of SVL, FL 39.8% of SVL. Toes slender, fringed (Fig. 2B). Relative toe length $I < II < III \approx V < IV$. Discs elliptical, wider than long, slightly smaller than discs of fingers, $4TD \geq 3FD$. Subarticular tubercles single, conical, rounded; supernumerary tubercles small, single, conical, rounded. Inner metatarsal tubercle single, elliptical; outer metatarsal tubercle single, long and elliptical, almost half-size the inner tubercle. Webbing formula $I 2-2^+ II 1^{1/4}-2^+ III 1-2^{1/3} IV 2^+-1 V$; (Fig. 2B) ventrolateral margin of tarsus and heel slightly granular.

Cloacal opening directed posteriorly, somewhat granulose, and evident as a thickening of the skin. Skin on dorsum of head, upper eyelid, trunk, and limbs and dorsolateral portion of body with scattered granules. Posterior corner of eyes, around tympanum, upper arm insertion and supratympanic fold, more granular. Ventrally the belly and chest, surfaces of upper arm densely covered with rounded, flat granules (Fig. 1B, 3C); subcloacal region and two-thirds of thighs surface with areolate granules. Dorsal portion of hindlimbs and ventral surfaces of shank smooth. Vocal sac, hidden surfaces of limbs, and inguinal region also with smooth texture of the skin.

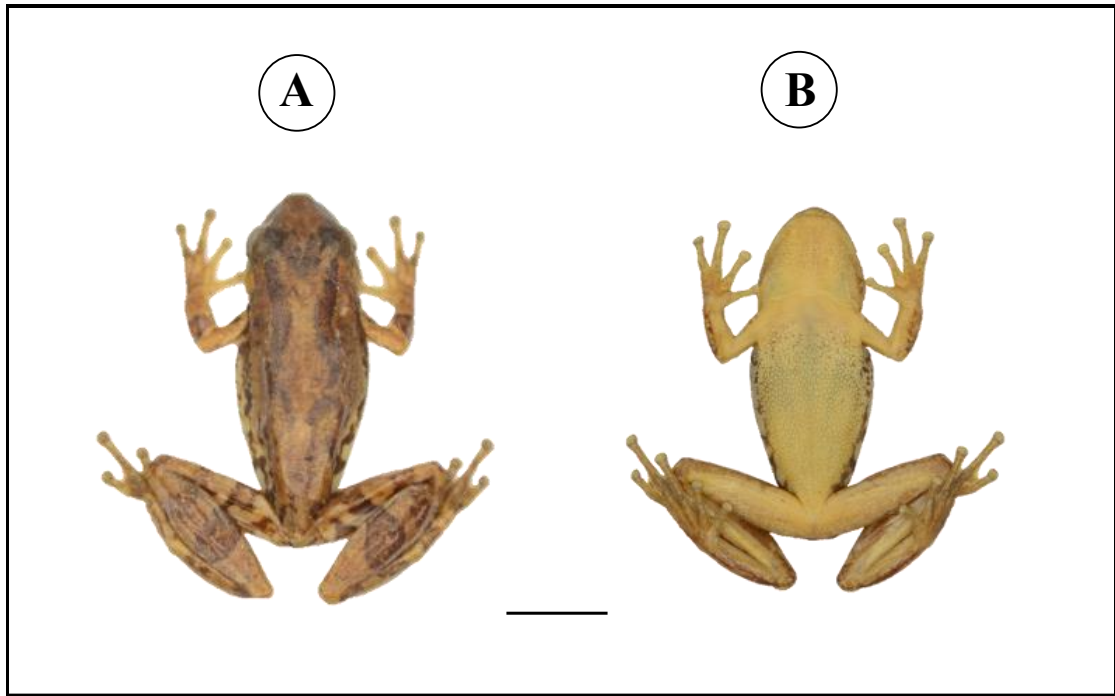


Figure 1. Holotype of *Scinax* sp. nov. (UFRGS 2061). (A) Dorsal and (B) ventral views. Scale bars = 10 mm.

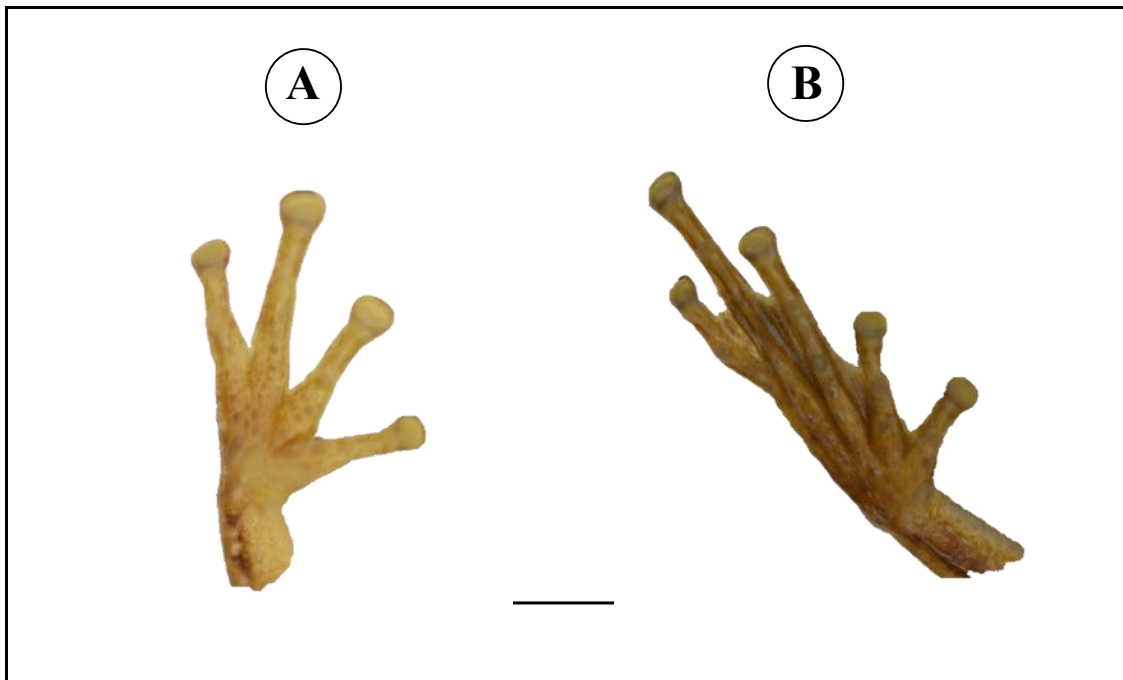


Figure 2. Holotype of *Scinax* sp. nov. (UFRGS 2061). (A) Ventral view of right hand and (B) ventral view of the right foot. Scale bars = 3 mm

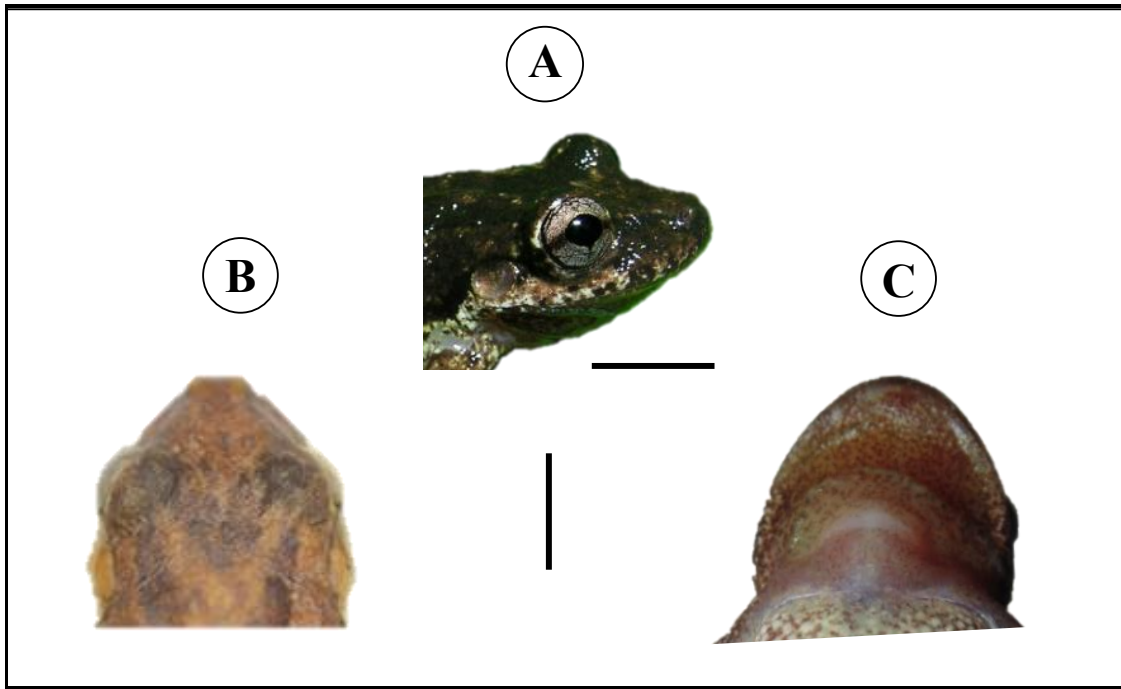


Figure 3. Holotype of *Scinax* sp. nov. (UFRGS 2061). Head in (A) profile, (B) dorsal, and (C) ventral views. Scale bars = 6 mm.

Color of the holotype preserved in alcohol 70%

Dorsum coloration light brown with interocular and longitudinal markings on scapular region and on sacral region dark brown faded (Fig. 1A). Hands and feet light brown or cream. Hidden portions of the thigh and shank light brown with some diffuse blotches. Flanks and inguinal region cream with opaque blotches. Venter white cream (Fig. 1B).

Coloration in life

Dorsum is composed of two elongated, concave irregular parentheses-like dark brown blotches in the scapular region, other two parallel, rounded brown spots in the sacral region, and a brown to dark-brown inverted triangle blotch in the interocular region on a brown to the yellowish-cream background; Small white spots present on the dorsum including interorbital region; Dorsolateral and longitudinal dark brown stripe, from behind the nostril aperture in *canthus rostralis*, through eyes (coincident with the median black streak in the iris), through the upper margin of the tympanum, ending near the axillae on flanks; Cream white band in the upper lip, from below the eye ending in contact with the tympanum; Flanks cream or yellowish with few brown blotches scattered (Fig. 4, 5, 6A). Vocal sac opaque white covered with light gray pigmented spots in the upper

half; Chest and belly cream with granulate tubercles getting soaked on the brown background at the sides of the belly (Fig. 6B); Inguinal region, anterior and posterior surfaces of thighs and hidden portion of shanks with irregular brown, bluish, or light wine spots under yellowish to cream background coloration (Fig. 6A); Dark brown large transverse bars on dorsal surfaces of shanks, thighs and tarsus and smaller blotches or spots on upper and forearms, fingers and toes; Iris coloration is brownish-golden with darker reticulations and a median black streak (Fig. 4).



Figure. 4. Holotype (UFRGS 2061) from *Scinax* **sp. nov.** from Parque Estadual de Itapeva, Torres, Rio Grande do Sul. Photo credits: P. Colombo

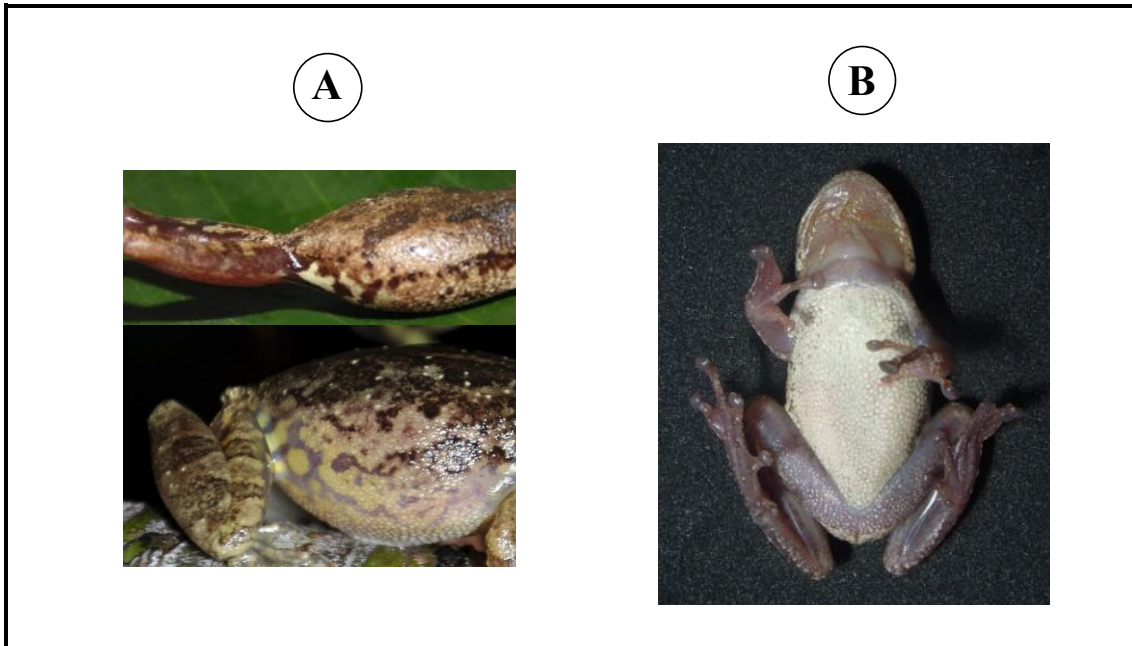


Figure 5. Unvouchered males specimens of *Scinax sp. nov.*, showing the color pattern in (A) flanks, groin and the hidden portion of the thigh and dorsolateral region of the body and (B) chest and belly in ventral view. Photo credits: (A) above and (B), M. D. Freire; A below, L. F. Ugioni.

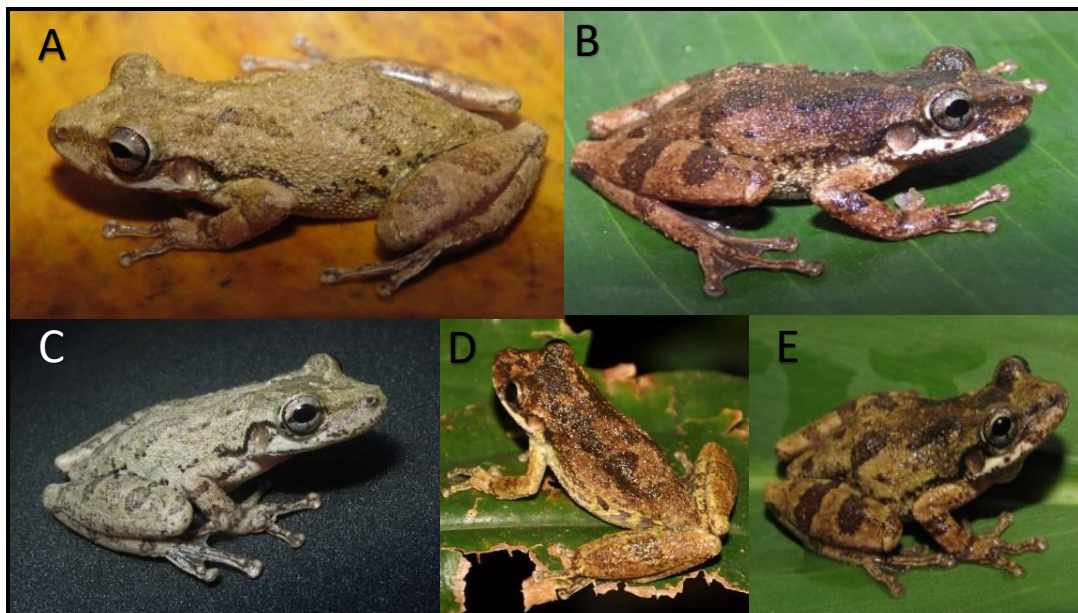


Figure 6. Variation in the color pattern of *Scinax sp. nov.* in living males specimens from (A), (B) and (E) municipality of Itatí, and (C) municipality of Torres, state of Rio Grande do Sul, (D) Tavares river, municipality of Florianópolis, state of Santa Catarina. Photo credits: (A, B) M. D. Freire, (C) P. Colombo, (D) L. F. Ugioni and (E) Dener Heiermann.

Table 1. Measurements (in mm) of adults of *Scinax sp. nov.* including holotype. Mean \pm SD plus range (mm). See Materials and methods section for the abbreviations of measurements.

Measurements	Holotype	Males (n=12)	Range
SVL	34.56	35.5 \pm 2.18	39.5 - 31.23
HL	11.8	12.0 \pm 0.73	13.26 - 11.03
HW	11.04	11.2 \pm 0.49	11.88 - 10.5)
IOD	4.28	4.3 \pm 0.30	4.80 - 3.80
NSD	1.58	1.6 3 \pm 0.32	2.27 - 2.24
ED	3.68	3.25 \pm 0.22	3.72 - 2.94
IND	2.55	2.54 \pm 0.18	2.93 - 2.27
END	3.03	3.6 \pm 0.47	4.44 - 3.00
TD	2.50	2.3 \pm 0.21	1.86 - 2.63
UEW	2.51	2.73 \pm 0.28	3.22 - 2.3)
SL	5.43	5.53 \pm 0.82	6.80 - 3.44
THL	15.85	16.24 \pm 0.88	17.94 - 14.66
TBL	17.78	18.45 \pm 1.20	20.44 - 16.77
FL	14.98	15.6 \pm 1.06	17.53 - 14.22
HAL	9.41	9.8 5 \pm 0.79	11.24 - 8.86
FR	8.34	7.22 \pm 0.87	9.08 - 5.93
3FD	1.49	1.69 \pm 0.22	2.09 - 1.2
4TD	1.37	1.56 \pm 0.24	2.08 - 1.21

Variation

Measurements of the available specimens are given in Table 1. The general morphology of the specimens of the *Scinax sp. nov.* examined are very similar. The dorsal pattern showed some variation related to the size and extension of interocular marking, dorsolateral stripe or blotches in the scapular region, and blotches in the sacral region. In some specimens, the interocular markings are irregular (UFRGS 4130), rhomboid (CFBH 40196; UFRGS 4131), or inverted triangles with a long base (UFRGS 6617). The scapular marking could be of the irregular form (UFRGS 6610; CFBH 9848), a short stripe (CFBH 40195), or with the interorbital and scapular region fused (CFBH 40194), sometimes forming a long stripe (UFRGS 4131) or partially fused at one side (CFBH 40197). The sacral marking could show irregular blotches (CFBH 9848, UFRGS 7595) or fused with a scapular mark (UFRGS 7593).

The dorsolateral stripe could be long and marked (MCN 14410), with blotches until the groin (MCN 14412, UFRGS 4130), few scattered small blotches (MCN 14412, 14415,

CFBH 9828, UFRGS 4131), narrow and short stripe (MCN 14414, 4415; CFBH 40194, 40197), of irregular shape (UFRGS 6610) or absent and inconspicuous (CFBH 40195, 40196). Dark brown transverse bars on the dorsal surface of shanks in some specimens are of irregular forms (MCN 14410, 14414), enlarged (UFRGS 4131) or strongly marked (CFBH 9848).

With respect to the level of tubercles and granules on the dorsum, some specimens are densely covered (CFBH 9848) and others specimens demonstrate fewer tubercles on the skin (CFBH 4094, 4096). The background color pattern of some specimens could be of light coloration (CFBH 40194, 40195, 40196, 40197; Fig. 6A, C) or dark coloration (UFRGS 2062; Fig. 6B, D, E).

Advertisement call

The advertisement call consisted of a single pulsed note with duration of 0.13–0.34 s ($n = 168$ calls), with 5–14 pulses per call ($n = 168$), regularly spaced throughout the call, and could be categorized as a short call (call duration < 350 ms) (*sensu* Bilate and Lack, 2011) (Fig. 7, Table 2 and Appendix 2 for distinct populations). The calls were emitted at irregular intervals of 0.33–8.37 s with the call rate ranging from 52.1–60.5 calls/min ($n = 3$). The pulse rate ranged from 35.3–40.4 pulses/s and the inter-pulse interval had a duration of 0.001–0.012 s. The first pulse was low in intensity within most calls, demonstrating some ascendant amplitude modulation from the first to second pulses, and generally until the third, reaching stabilization (plateau) throughout the call duration.

Pulses showed some amplitude modulation between each pulse in all populations analyzed, with the first pulse duration of 9–24 ms ($n = 1637$ pulses), mid-call pulses had a duration of 19–28 ms ($n = 1637$), and the last pulses with 17–30 ms ($n = 1637$).

The dominant frequency ranged from 1125–3617 Hz ($n = 168$). Two emphasized frequency bands were observed, the lower band (Frequency 5%) and the upper band (Frequency 95%). The lower band ranged from 937.5 – 1378 HZ and the upper band between 2437 – 5943 Hz.

Table 2. Acoustic parameters of advertisement calls of *Scinax* **sp. nov.** from type-locality, municipality of Torres, municipalities of Capão da Canoa and Itatí in state of Rio Grande do Sul and the municipality of Arroio do Silva state of Santa Catarina, Brazil; n: Number of calls and specimens analyzed. Mean \pm SD (range).

Parameters	<i>Scinax</i>. sp. nov. n = 164 (8 males)
Call duration (s)	0.267 \pm 0.0451 (0.1309 – 0.348)
Interval between calls (s)	0.896 \pm 2.0136 (0.3385 – 22.259)
Pulses per call (pulses/call)	9.774 \pm 1.7472 (5 – 14)
Interval between pulses (s)	0.00643 \pm 0.00248 (0.00103 – 0.0154)
Pulse period (s)	0.0273 \pm 0.00227 (0.0173 – 0.0334)
Pulses rate	36.486 \pm 1.288 (33.429 – 40.442)
First pulse duration (s)	0.0186 \pm 0.00232 (0.0096 – 0.0246)
Last pulse duration (s)	0.0231 \pm 0.00218 (0.0173 – 0.03)
Mean pulse duration (s)	0.0217 \pm 0.00197 (0.014 – 0.0284)
Dominant frequency (Hz)	1735.028 \pm 805.097 (602.93 – 5770.89)
Peak of frequency of ° first pulse (Hz)	1333.021 \pm 454.450 (1119.72 – 5770.89)
Peak of frequency of mean pulses (Hz)	1768.82 \pm 813.91 (602.93 – 3617.57)
Peak of frequency of last pulses (Hz)	1874.28 \pm 888.264 (1125 – 3617.57)

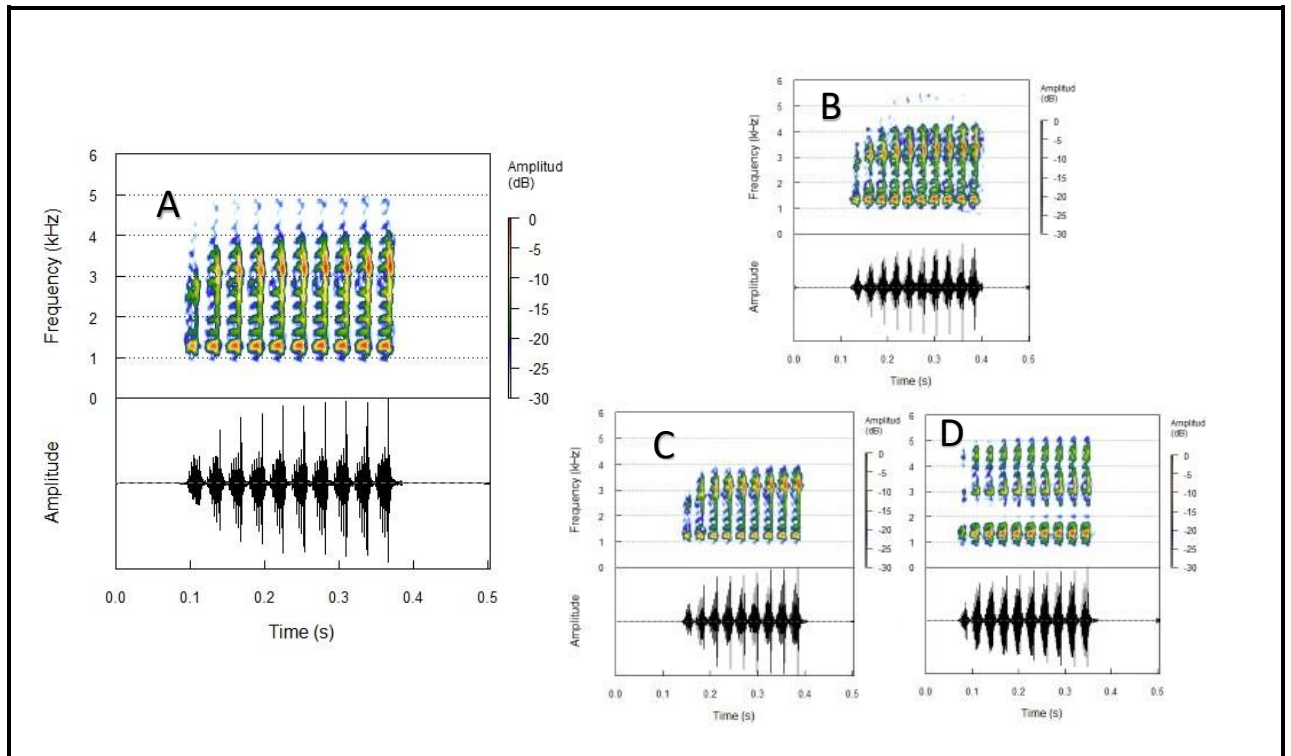


Figure 7. Spectrogram (top) and oscillogram (bottom) of the advertisement call of *Scinax sp. nov.* from (A) type-locality, Parque Estadual de Itapeva, municipality of Torres, Rio Grande do Sul state, Brazil, (B) municipality of Capão da Canoa (C), municipality of Itatí, state of Rio Grande do Sul and (D), municipality of Arroio do Silva, state of Santa Catarina, Brazil.

Tadpole Description

The tadpole of *Scinax sp. nov.* can be classified as Guild II (exotrophic), A (lentic habitats), 2 (nektonic) of ecomorphological guild of Altig & McDiarmid (1999).

In stages 35 to 38 (Table 3) this has approximately 27 mm of TL (26.9 ± 2.1 ; $32.84 - 21.51$). Body compressed ($BMH/BMW = 0.84 \pm 0.18$), elliptical slightly elongate in dorsal view and triangular in lateral view, with greater width at mid-body level. Body length slightly smaller than 1/3 of the total length ($BL/TL = 0.30 \pm 0.01$) and width more than 3/4 of the body length ($BMW/BL = 0.81 \pm 0.11$); snout rounded in dorsal view and sloped at lateral view (Fig. 8A, 8B); small nostril ($N/BMW = 0.07 \pm 0.01$), elliptical; nostril aperture directed dorsolaterally ($EN/BWE = 0.39 \pm 0.03$), with weak developed edge projection; nostrils positioned closer to the tip of the snout than to the eyes ($FN/EN = 0.57 \pm 0.08$). Eyes medium-sized ($E/BWE = 0.31 \pm 0.02$), laterally oriented ($IOD/BWE = 0.98 \pm 0.05$) and also visible ventrally (Fig. 8A, 8B).

Spiracle sinistral, short, directed laterally and located at the middle of the body and visible dorsally and laterally ($RSD/BL = 0.71 \pm 0.06$); opening of the spiracle narrow and oval, with an internal wall merged into the body wall and oriented posterodorsally; intestinal tube circular, placed from the center of the abdominal region; Vent tube dextral, short and conical, directed posteriorly, positioned above its ventral margin and fused to the ventral fin on its right margin; Tail intermediate to high-sized ($TAL/TL = 0.70 \pm 0.01$), higher than the body ($MTH/BMH = 1.21 \pm 0.21$) (Fig. 8A) and rounded tail tip.

Tail musculature moderately strong ($TMH/BH = 0.36 \pm 0.51$), gradually tapering towards the tail tip, not reaching the tail end (Fig. 8B); Tail musculature with *vena caudalis ventralis* and *vena caudalis lateralis* evident. Dorsal fin mid-sized ($DFH/MTH = 0.33 \pm 0.06$), slightly convex, originating at the end of the middle third of the body behind the eyes and at small to intermediate slope ($DFIA = 12^\circ$); maximum height at the middle third of tail and slightly smaller than the ventral one ($DFH/VFH = 0.91 \pm 0.06$); mid-sized ventral fin ($VFH/MTH = 0.37 \pm 0.07$), with a slightly convex margin originating at the level of the ventral tube.

Oral disc (Fig. 9A) anteroventral of mid-sized ($OD/BL = 0.30 \pm 0.06$) with emargination absent. Marginal papillae are arranged in a single row at the sides of the dorsal gap and angular region, turning biseriata (sometimes triseriata) in the subangular and ventral region; individual papillae with a conical shape, longer than wide and pointed at tip (Fig. 9A); marginal papillae interrupted dorsally ($DG/OD = 0.40 \pm 0.07$); some (18-22) submarginal papillae scattered laterally.

Table 3. Morphological measurements from tadpole of *Scinax sp. nov.* in stages 32 to 38 of Gosner (1960); Mean values \pm standard deviations (SD) and range in millimeters. See Materials and methods section for the abbreviations of measurements.

Measurements	32 N=4	33	34 N=7	35 N=5	36 N=6	37 N=7	38
TL	21.54 \pm 3.77 (28.07-19.16)	21.12	22.22 \pm 0.93 (23.13-20.34)	25.6 \pm 1.72 (27.74-22.51)	26.0 \pm 1.01 (27.74-24.94)	28.40 \pm 2.38 (32.84-26.82)	27.1
BL	6.63 \pm 1.16 (8.34-6.36)	6.53	6.65 \pm 0.37 (7.36-6.25)	7.80 \pm 0.67 (8.61-6.67)	7.8 \pm 0.30 (8.34-7.36)	8.2 \pm 0.49 (9.17-7.78)	8.34
TAL	15.18 \pm 2.63 (19.73-13.48)	14.59	15.61 \pm 0.71 (16.6-15.7)	17.8 \pm 1.27 (19.4-15.84)	18.3 \pm 0.94 (19.4-17.3)	20.1 \pm 1.87 (23.87-19.04)	18.76
BMW	4.49 \pm 0.44 (5.2-4.08)	4.59	4.94 \pm 0.28 (5.4-4.59)	6.1 \pm 0.40 (6.67-5.61)	6.6 \pm 0.70 (7.64-5.9)	7.5 \pm 0.45 (7.92-6.63)	7.78
BWN	3.40 \pm 0.30 (3.79-3.06)	3.46	3.70 \pm 0.22 (4.08-3.36)	4.1 \pm 0.44 (4.89-3.57)	4.4 \pm 0.24 (4.79-4.08)	4.3 \pm 0.52 (5.3-3.87)	4.08
BWE	4.46 \pm 0.46 (5.2-4.08)	4.59	4.94 \pm 0.28 (5.4-4.59)	5.5 \pm 0.71 (6.52-4.48)	5.9 \pm 0.29 (6.12-5.5)	6.0 \pm 0.55 (7.03-5.4)	5.71
TMW	1.58 \pm 0.22 (1.93-1.32)	1.73	1.88 \pm 0.20 (2.14-1.63)	2.3 \pm 0.34 (2.85-1.93)	2.3 \pm 0.15 (2.55-2.14)	2.3 \pm 0.16 (2.55-2.14)	2.34
BMH	4.28 \pm 0.45 (5.04-3.89)	4.3	5.0 \pm 0.77 (5.69-3.75)	4.4 \pm 0.28 (4.72-4.03)	5.2 \pm 0.35 (5.69-4.86)	5.2 \pm 0.58 (6.39-4.44)	5.56
MTH	4.53 \pm 0.09 (4.69-4.48)	5.1	5.33 \pm 0.61 (6.12-4.69)	6.3 \pm 0.71 (7.65-5.5)	6.2 \pm 0.38 (6.73-5.5)	6.6 \pm 0.34 (7.14-6.32)	6.32
TMH	1.87 \pm 0.07 (1.94-1.80)	2.08	2.14 \pm 0.17 (2.36-1.8)	2.7 \pm 0.30 (3.19-2.36)	2.7 \pm 0.17 (2.91-2.36)	2.8 \pm 0.26 (3.47-2.64)	2.5
RSD	4.36 \pm 0.19 (4.59-4.08)	4.69	4.80 \pm 0.33 (5.46-4.28)	5.40 \pm 0.25 (5.81-5.1)	5.3 \pm 0.55 (5.98-4.79)	6.0 \pm 0.21 (6.12-5.71)	6.12
FN	0.99 \pm 0.05 (1.02-0.91)	1.02	1.06 \pm 0.11 (1.22-0.91)	1.2 \pm 0.20 (1.42-1.02)	1.3 \pm 0.27 (1.83-1.02)	1.4 \pm 0.29 (2.04-1.12)	1.12
END	1.68 \pm 0.21 (2.04-1.53)	1.63	1.92 \pm 0.18 (2.24-1.63)	2.1 \pm 0.35 (2.55-1.63)	2.3 \pm 0.16 (2.55-2.04)	2.4 \pm 0.18 (2.55-2.04)	2.34
IND	2.27 \pm 0.15 (2.44-2.04)	2.55	2.17 \pm 0.30 (2.65-1.83)	2.8 \pm 0.31 (3.36-2.44)	3.0 \pm 0.40 (3.06-2.65)	3.0 \pm 0.15 (3.36-2.85)	3.06
N	0.35 \pm 0.02 (0.36-0.31)	0.41	0.37 \pm 0.04 (0.41-0.31)	0.4 \pm 0.05 (0.46-0.31)	0.5 \pm 0.08 (0.52-0.41)	0.5 \pm 0.08 (0.52-0.41)	0.56
ESD	2.55 \pm 0.13 (2.75-2.44)	2.65	2.64 \pm 0.18 (3.06-2.55)	3.0 \pm 0.31 (3.57-2.65)	3.1 \pm 0.19 (3.57-3.06)	3.4 \pm 0.19 (3.57-3.26)	3.26
E	1.47 \pm 0.07 (1.56-1.44)	1.56	1.56 \pm 0.08 (1.66-1.04)	1.7 \pm 0.13 (1.92-1.56)	1.8 \pm 0.08 (1.87-1.66)	1.8 \pm 0.11 (1.92-1.61)	1.82
IOD	4.22 \pm 0.32 (4.68-3.79)	4.47	4.80 \pm 0.21 (5.04-4.47)	5.4 \pm 0.47 (6.24-4.94)	5.7 \pm 0.17 (5.98-5.467)	6.0 \pm 0.37 (6.66-5.56)	5.98
OD	2.23 \pm 0.49 (3.06-1.82)	2.12	2.25 \pm 0.28 (2.44-1.89)	2.1 \pm 0.19 (2.37-1.82)	2.3 \pm 0.31 (2.52-1.82)	2.5 \pm 0.20 (2.85-2.23)	2.83
DG	0.84 \pm 0.22 (1.19-0.59)	0.94	0.77 \pm 0.10 (0.93-0.65)	0.9 \pm 0.12 (1.05-0.68)	0.9 \pm 0.08 (1.04-0.84)	1.1 \pm 0.23 (1.36-0.68)	1.05
DFH	1.88 \pm 0.62 (2.95-1.42)	1.63	1.75 \pm 0.20 (2.14-1.53)	2.0 \pm 0.30 (2.55-1.63)	2.0 \pm 0.17 (2.14-1.63)	2.2 \pm 0.14 (2.34-1.93)	2.04
VFH	1.99 \pm 0.68 (3.16-1.53)	1.93	1.89 \pm 0.22 (2.34-1.63)	2.3 \pm 0.31 (2.85-1.93)	2.3 \pm 0.42 (3.06-1.63)	2.4 \pm 0.17 (2.55-2.04)	2.24

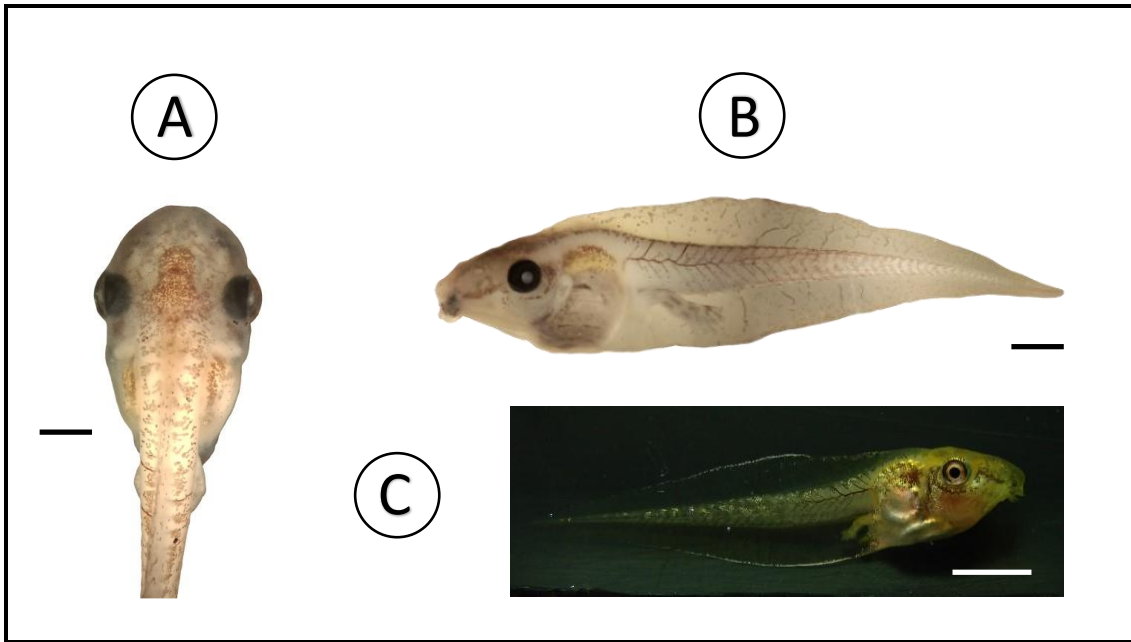


Figure 8. Tadpole of *Scinax sp. nov.*, (MCN 14502, Stage 38). (A) dorsal view and (B) lateral view, (C) coloration in life. Scale bar = 3.5 mm

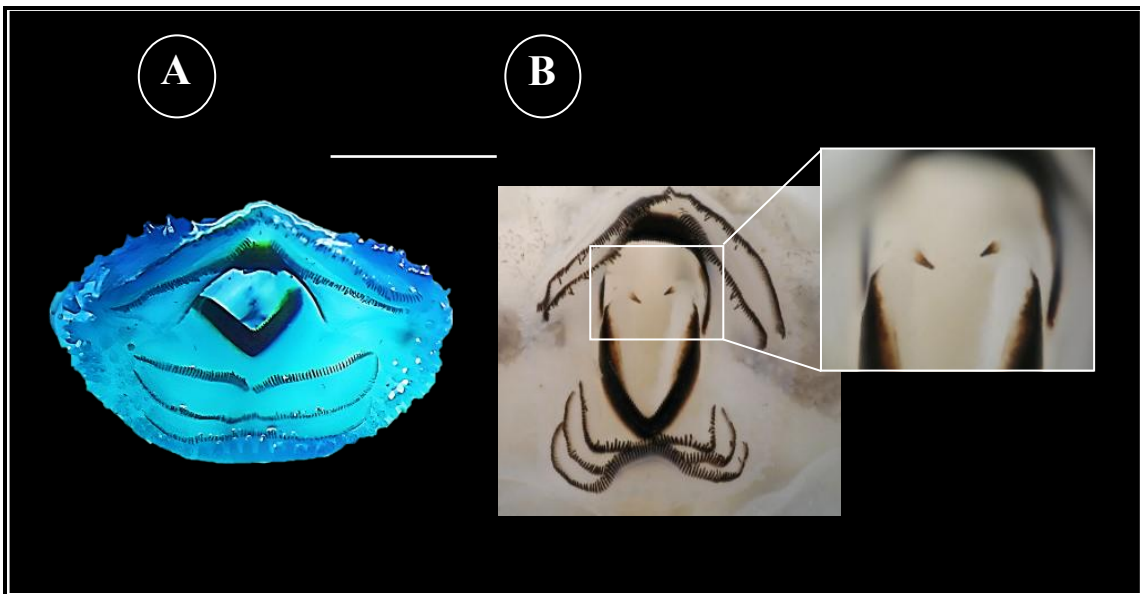


Figure 9. Oral disc and mouthparts of the tadpole of *Scinax sp nov.*, (MCN 14502, Stage 38). (A) oral disc (ventral view), (B) detail of the developed keratinized spur on each side behind the lower jaw-sheath. Scale bar = 1.25 mm.

The most common dental formula was 2(2)/3(1), with only one specimen showing 2(2)/3 formula. Jaw sheaths keratinized and serrated; upper jaw sheath arch-shaped with a mid-sized lateral process and lower jaw sheath in a "V" shape, both finely serrated (Fig. 9A);

labial teeth arranged in rows of different sizes ($A1=A2$; $P1<P2>P3$ and $P1=P3$); $A2$ interrupted medially; well-developed keratinized spur on each side behind the lower jaw-sheath (Fig. 9B).

In life (Fig. 8C), dorsal and lateral view coloration of the body yellowish stained with reddish marks; abdominal region in lateral and ventral view of body with silver flecks melanophores; translucent fins with scattered dots in its anterior portion and finely dark brown reticulation in dorsal and ventral fins; musculature of fins white opaque; spiracle translucent; dorsal and ventral fins bordered with a distinct white line not reaching the tail tip; eye with golden border and iris brownish-golden with darker reticulations and a median black streak not evident; dense group of markings from the snout running through eyes to body and tail junction; reddish contour line below the eye. In preserved specimens (Fig. 8A, 8 B), body color and tail musculature are lost, becoming faded, adopting light cream color; fins lose their reticulate pattern with blood veins appearing on the dorsal fin.

One post-metamorphic specimen (MCN 14503) of *Scinax* **sp. nov.**, in profile with dorsal and dorsolateral light brown coloration, showing brownish spots on hand, forearm, feet and oblique transverse bars on hindlimbs (Fig. 10).



Figure 10. Newly metamorphosed individual of *Scinax* **sp. nov.**, (MCN 14503; SVL = 12.5 mm) in profile.

Analysis and comparisons of *Scinax* sp. nov. with related species of *Scinax ruber* group: morphometry of adult and tadpoles and acoustic attributes

LDA of adult dataset had a 66.27% success rate in classifying individuals into their original species (Table S1). The first LDA axis captured 58.54% of the variation and was heavily loaded by tibia length (-TB), hand length (+HAL), snout-vent length (-SVL) and tympanum diameter (-TD) (Fig.11, Table S1). PERMANOVA test using adult morphology variables doesn't reveal an evident differentiation between species ($F=6.79$, $P=0.0001$) (Table S3). Pairwise comparisons showed that *Scinax* sp. nov. was statistically different from both *S. granulatus* ($P=0.0001$) and *S. perereca* ($P=0.0024$), while she was not statistically different from both *S. fuscovarius* ($P=0.23$) and *S. nasicus* ($P=0.13$). The remaining of pairwise comparisons exhibit significant differences with p values < 0.01 (Table S2).

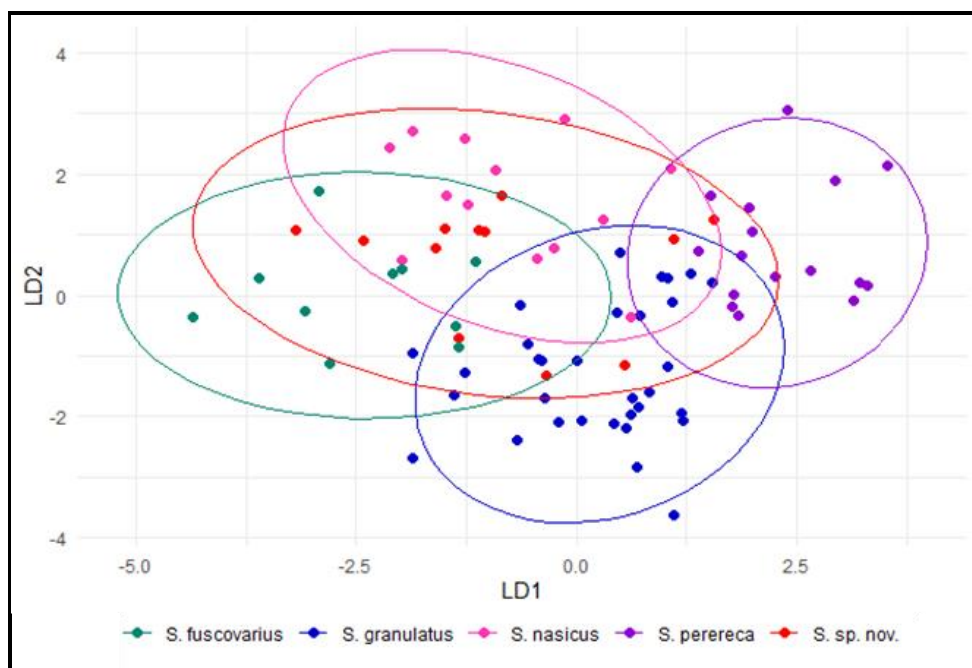


Figure 11. Linear discriminant analyses (LDA) of morphological variables of adults of *Scinax* sp. nov. and *S. granulatus*, *S. fuscovarius*, *S. nasicus* and *S. perereca*.

The PCA analysis of call variables displayed a high discriminant power among species, explaining the first two components the 81.35% of the variation (Table S6). The variables that contributed to the PC1 were call duration (+CD) and pulse rate (-PR), while pulse

number (+NP) and pulse period (-PP) explained the variation (30.3%) of the second dimension. In multidimensional space, there are five well-differentiated clusters representing distinct species analyzed (Fig. 12, Table S6). The PERMANOVA test indicated the differentiation among species ($F=107$, $p=0.0001$), and showed significant differences between all the pairwise comparisons among species, with all p values < 0.02 (Table S7).

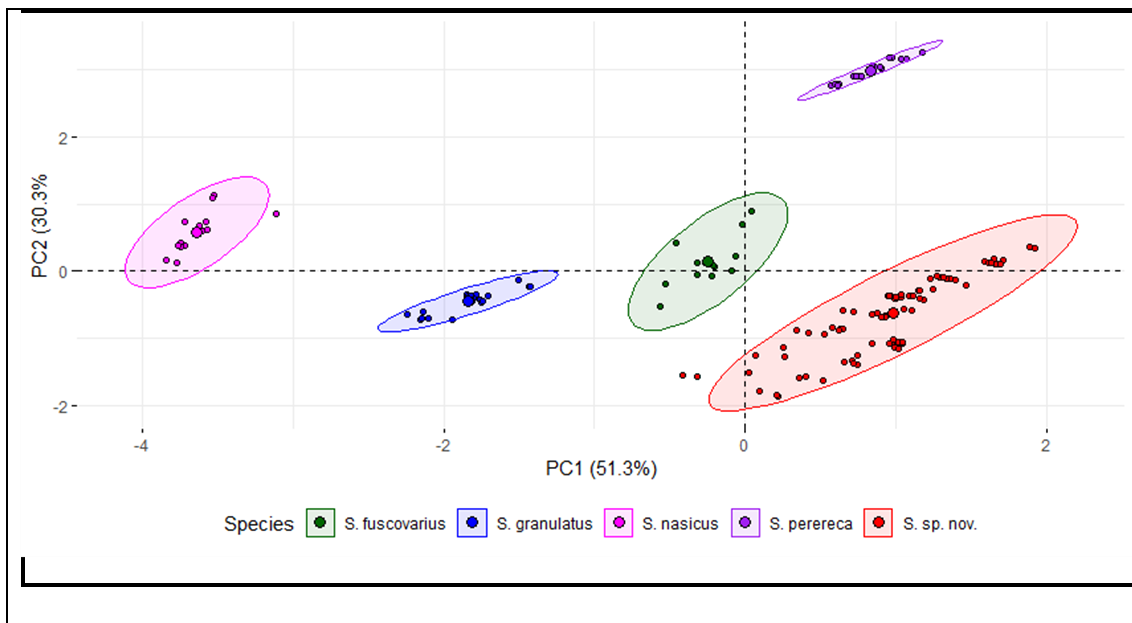


Figure 12. Principal components analysis (PCA) of bioacoustics variables of *Scinax sp. nov.* and *S. granulatus*, *S. fuscovarius*, *S. nasicus* and *S. perereca*.

The LDA of tadpole morphology dataset of *S. sp. nov.* and *S. granulatus* had a 100% success rate in classifying individuals into their original species (Table S4). The only LDA axis captured all variation and was explained by tail length (+TAL), eye diameter (+ED), total length (-TL) and ventral fin height (-VFH) (Fig. 13, Table S1). On the other hand, the PERMANOVA analysis using tadpole morphological characteristics also confirmed the differentiation between species, *S. granulatus* and *S. sp. nov.* ($F=12.14$, $P=0.0001$, Table S5).

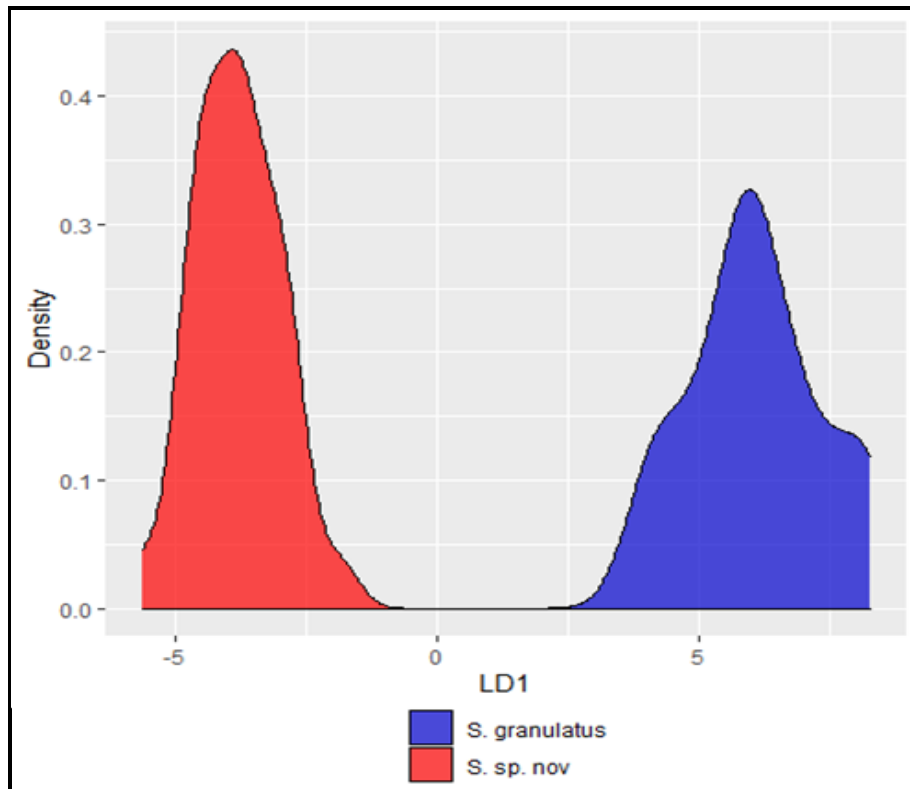


Figure 13. Linear discriminant analyses (LDA) of morphological variables of tadpoles of *Scinax sp. nov.* and *Scinax granulatus*.

Natural history and geographic distribution

Scinax sp. nov. could be found in open areas like wet and dry fields and in forest environments such as swamp forests and on edges of primary and secondary forests, but also occur in anthropized environments. At type-locality (Parque Estadual de Itapeva, Torres municipality, Rio Grande do Sul state) where the habitats of the new species have been already characterized, this species occupies all above-cited habitats and even could be found in temporary pools associated with sand dunes and coastal swamps (Colombo et al. 2008 as *S. fuscovarius*). Males were frequently heard calling perches in vegetation at different heights or on the ground, at or near the edges of semi-permanent swamps and temporary pools.

Scinax sp. nov. is currently known from 11 localities in areas of Atlantic Forest from the municipality of Capão da Canoa, northeast region of the state of Rio Grande do Sul to the island of Florianópolis, east-central portion of the state of Santa Catarina, southern Brazil. These areas comprise the Araucaria Forest, Atlantic Coast Restinga and Atlantic Forest

of Serra do Mar ecoregions (Olson et al. 2001), in a small and narrow range of approximately 270 km in length along the southern portion of the Mata Atlantica biome of these states (Fig. 14).

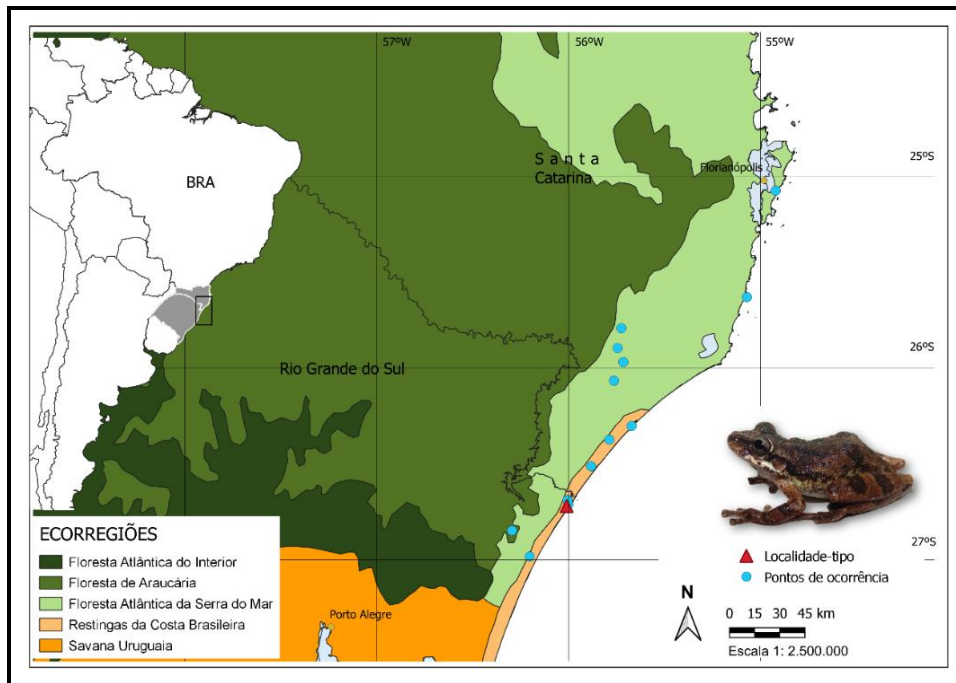


Figure 14. Geographic distribution of *Scinax sp. nov.* and associated ecoregions in Rio Grande do Sul and Santa Catarina states

Discussion

Many studies with *Scinax* species of the *ruber* clade (*sensu* Faivovich, 2002) brought attention to the difficulties to species recognition due to the great morphological conservatism of many species, allied to the high diversity of species within the genus with new species still being described (e.g., Lutz, 1973; Pombal *et al.* 1995; Faivovich 2002; Faivovich *et al.* 2005; Ferrão *et al.* 2016; Novaes-e-Fagundes *et al.* 2021). Therefore, conducting research with a more integrative framework is crucial to solving relevant open questions for the genus *Scinax*, since the evolutionary relationships among species are actually poorly understood, as the case of many species unassigned to any morphological group, and the lacking of a more inclusive phylogenetic analysis for the genus (e.g., Faivovich *et al.* 2005; Ferrão *et al.* 2016; Fouquet *et al.* 2007, Araujo-Vieira *et al.* 2020). On the other hand, the inclusion of other lines of evidence together with taxonomy in future studies requires additional efforts, since the advertisement calls of *Scinax* species

are known to have a great diversity of patterns and acoustic features, that preclude acoustic diagnosis in some cases, and still, many species have their advertisement calls undescribed or poorly known (e.g., Bevier *et al.* 2008; Magrini *et al.* 2011; *Carvalho et al.* 2015; Guerra *et al.* 2018; Lopes *et al.* 2019). Yet, numerous tadpole species are undescribed in the genus (30% of the total for *Scinax*) and there is a huge gap in biological information between other poorly-known subjects, such as the internal tadpole morphology and cytogenetic (Conte *et al.* 2007; Cardozo *et al.* 2011; Alcade & Rosset, 2003; Alcade *et al.* 2011; Dias *et al.* 2022).

The previous study by Malleret *et al.* (2022), found convincing evidence to recognize *Scinax* **sp. nov.** (*Scinax granulatus* - Lineage D) as a distinct candidate species within the *S. granulatus* complex and was a starting point for the present description of the new species. Malleret *et al.* (2022) confirmed the distinction of the new species through monophyly and applied multiple delimitation methods that found strong genetic divergence in relation to *S. granulatus* lineages and related species (*S. perereca*, *S. fuscovarius* and *S. nasicus*). Also, it highlighted the problem observed elsewhere, related to the correct identification between different but related species of *Scinax* of the *ruber* clade that occur in southern Brazil, Uruguay and Argentina (*i.e.*, *S. fuscovarius*, *S. granulatus*, *S. nasicus* and *S. perereca*) (e.g., Langone & Cardoso, 1997, Kwet, 2001; Fonte, 2010; Kwet *et al.* 2010).

The present study corroborated this issue since the adult morphology dataset demonstrated overlapping parameters between species analyzed, with morphometric data not helping to fully separate the new species from related species, grouping them together (*S. granulatus*, *S. perereca*, *S. fuscovarius* and *S. nasicus*). Despite this, the new species can be differentiated by presenting a strong character diagnostic related to a white or cream band marked on the upper lip, in addition to differences in the morphology of the tadpoles and call parameters (see below).

Kwet (2001) and posteriorly Fonte (2010), have already indicated the difficult diagnosis of these four species (*S. granulatus*, *S. perereca* and *S. fuscovarius* and *S. nasicus*) based solely in the advertisement call due to their overall similarity, and potential inter and intraspecific variation in call attributes.

In regard to the acoustic variables in our study, the PCA displayed a high discriminant power among species, showing a multidimensional space where five well-differentiated

clusters represent distinct species, with the variables that better contributed to species differentiation being call duration, pulse rate, pulse number and pulse period, with complete overlap between dominant frequency range values, this last call property, probably to the similar body size of species (Köhler *et al.* 2017).

According to Gerhardt (1991) static properties of the advertisement call over dynamic ones, tend to be more important for species recognition and for taxonomy, since these properties show less variation. Also, Köhler *et al.* (2017) pointed out that acoustic parameters related to pulse rate and call/note duration demonstrate less variability, being good acoustic characters for populational comparisons.

Our results also corroborate this issue in relation to these call properties (i.e., call duration, pulse rate), that completely differentiating the new species from related ones. However, the limited group of species analyzed (only four species plus *Scinax sp. nov.*) in a less extended geographic area (Southern Brazil, Argentina and Uruguay), suggest that a more comprehensive analyzes is needed in the future with extensive number of species of the *Scinax ruber* clade, that could demonstrate more concrete results in regard of this bioacoustics question related to the relative importance of static vs. dynamic properties of advertisement calls of *Scinax* species.

The tadpole morphology data were very informative for the correct differentiation between the new species and *S. granulatus*. The LDA of the tadpole morphology dataset of *Scinax sp. nov.* and *S. granulatus* had a 100% success rate in classifying individuals into their original species. As mentioned above, the study of the morphology of tadpoles is scarce for the genus *Scinax*, not allowing further conclusions about the relationships between groups of species, combined with the large inter and interspecific variation in several morphological characters to be expected (Pezzuti *et al.* 2020).

In sum, there is a fundamental need for more extensive and better data to potentially understand the evolutionary history of species in the *Scinax ruber* clade. We here emphasize, among some factors, the necessity of a greater number of samples in a wider geographical area for these species (i.e., potential contact zone, areas of sympatry and/or syntopy), and the adoption of adult and tadpole morphology coupled with bioacoustics with further genetic data on the analysis, preferentially using material from topotypical populations for comparisons, as pivotal for this task.

References

- ALCALDE, L. & ROSSET, S.D. (2003) Descripción y comparación del condrocáneo en larvas de *Hyla raniceps* (Cope, 1862), *Scinax granulatus* (Peters, 1871) y *Scinax squalirostris* (A.Lutz, 1925) (Anura: Hylidae). **Cuadernos de Herpetología**, **17**, 35–51.
- ALCALDE, L., VERA CANDIOTI, M. F., KOLENC, F., BORTEIRO, C., & BALDO, D. (2011). Cranial anatomy of tadpoles of five species of *Scinax* (Hylidae, Hylinae). **Zootaxa**, **2787**(1), 19-36.
- ALTIG, R., & R. W. MCDIARMID (1999) (eds.), **Tadpoles, The Biology Of Anuran Larvae**. Chicago and London, University of Chicago Press.
- ALVES, A. C., & SILVA, S. P. D. C. (2002). Descriptions of the tadpoles of *Scinax alter* and *Scinax cuspidatus* (Anura: Hylidae). **Journal of Herpetology**, 133-137.
- ALVES, A. C., GOMES, M. D. R., & SILVA, S. P. (2004). Description of the tadpole of *Scinax auratus* (Wied-Neuwied)(Anura, Hylidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, **21**, 315-317.
- ANDRADE, S.P.; SANTOS, D.L.; ROCHA, C.F.; POMBAL JR., J.P. & VAZ-SILVA, W. (2018). A new species of the *Oloolygon catharinae* species group (Anura: Hylidae) from the Cerrado biome, State of Goiás, Central Brazil. **Zootaxa**, **4425**(2): 283-303.
- ARAÚJO-VIEIRA, K.; BRANDÃO, R.A. & FARIA, D.C.C. (2015). A new species of RockDwelling *Scinax* Wagler (Anura: Hylidae) from Chapada dos Veadeiros, Central Brazil. **Zootaxa**, **3915**: 052-066.
- ARAÚJO-VIEIRA, K., POMBAL JR, J. P., CARAMASCHI, U., NOVAES-E-FAGUNDES, G., ORRICO, V. G., & FAIVOVICH, J. (2020). A neotype for *Hyla x-signata* Spix, 1824 (Amphibia, Anura, Hylidae). **Papéis Avulsos de Zoologia**, **60**.
- BARRETO, G. S., M. L. DEL GRANDE, M. F. NAPOLI, A. A. GARDA, AND F. A. JUNCÁ. (2019). The tadpole of *Scinax camposseabrai* (Bokermann) (Amphibia, Anura, Hylidae). **Zootaxa** **4674**: 393–396.
- BALDO, D.; ARAÚJO-VIEIRA, K.; CARDOZO, D.; BORTEIRO, C.; LEAL, F.; PEREYRA, M.O, KOLENC, F.; LYRA, M.L.; GARCIA, P.C.A.; HADDAD, C.F.B. & FAIVOVICH, J. (2019). A review of the elusive bicolored iris Snouted treefrogs (Anura: Hylidae: *Scinax uruguayus* group). **PLoS One**, **14**(9): e0222131.
- BEVIER, C.R.; GOMES, F.R. & NAVAS, C.A. (2008). Variation in call structure and calling behavior in treefrogs of the genus *Scinax*. **South American Journal of Herpetology**, **3**(3): 196-206.

- BILATE, M., & LACK, E. (2011). The advertisement call of *Scinax similis* (Cochran, 1952) (Amphibia, Anura). **South American Journal of Herpetology**, **6**(1), 54-58.
- BOKERMANN, W.C.A. (1968). Three new *Hyla* from the Plateau of Maracás, central Bahia, Brazil. **Journal of Herpetology**, **1**: 25-31
- BOKERMANN, W.C.A. (1969). Notas sobre "*Hyla aurata*" Wied, 1824 (Anura, Hylidae). **Revista Brasileira de Biologia**, **29**(2): 159-162.
- BOKERMANN, W.C.A. & SAZIMA, I. (1973). Anfíbios da Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil. 1: Duas espécies novas de *Hyla* (Anura, Hylidae). **Revista Brasileira de Biologia**, **33**(3): 521-528.
- BRUSQUETTI, F.; JANSEN, M.; BARRIO-AMORÓS, C.; SEGALLA, M. & HADDAD, C.F.B. (2014). Taxonomic review of *Scinax fuscomarginatus* (Lutz, 1925) and related species (Anura; Hylidae). **Zoological Journal of the Linnean Society**, **171**(4): 783-821
- CARDOSO, A.J. & SAZIMA, I. (1980). Nova espécie de *Hyla* do sudeste brasileiro (Amphibia, Anura, Hylidae). **Revista Brasileira de Biologia**, **40**(1): 75-79
- CARDOSO, A. J., & HADDAD, C. F. (1982). Nova espécie de *Hyla* da Serra da Canastra (Amphibia, Anura, Hylidae). **Revista Brasileira de Biologia**, **42**(3), 499-503.
- CARDOZO, D. E., LEME, D. M., BORTOLETO, J. F., CATROLI, G. F., BALDO, D., FAIVOVICH, J., ... & KASAHARA, S. (2011). Karyotypic data on 28 species of *Scinax* (Amphibia: Anura: Hylidae): diversity and informative variation. **Copeia**, **2011**(2), 251-263.
- CARVALHO, T. R., MARTINS, L. B., & GIARETTA, A. A. (2015). The complex vocalization of *Scinax cardosoi* (Anura: Hylidae), with comments on advertisement calls in the *S. ruber* Clade. *Phyllomedusa*: **Journal of Herpetology**, **14**(2), 127-137.
- CARVALHO-E-SILVA, S. D., & PEIXOTO, O. L. (1991). Duas novas espécies de *Ololygon* para os estados do Rio de Janeiro e Espírito Santo (Amphibia, Anura, Hylidae). **Revista Brasileira de Biologia**, **51**(1), 263-270.
- CARNEIRO, M.C.L., MAGALHÃES, P.S. & JUNCÁ, F.A. (2004) Descrição do girino e vocalização de *Scinax pachycrus* (Miranda-Ribeiro, 1937) (Amphibia, Anura, Hylidae). **Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro**, **62** (3), 241-246.
- CARVALHO, T. R., MARTINS, L. B., & GIARETTA, A. A. (2015). The complex vocalization of *Scinax cardosoi* (Anura: Hylidae), with comments on advertisement calls in the *S. ruber* Clade. *Phyllomedusa*: **Journal of Herpetology**, **14**(2), 127-137.
- CEI, J. M. (1980). **Amphibians of Argentina** (Vol. 2). Università degli studi di Firenze.

- CHÁVEZ, G., W. AZNARAN, L. A. GARCÍA AYACHI, AND A. CATENAZZI. (2023). Rising from the ashes: A new treefrog (Anura, Hylidae, *Scinax*) from a wildfire-threatened area in the Amazon lowlands of central Peru. **Evolutionary Systematics** **7**: 183–194
- COLOMBO, P., KINDEL, A., VINCIPROVA, G., & KRAUSE, L. (2008). Composição e ameaças à conservação dos anfíbios anuros do Parque Estadual de Itapeva, município de Torres, Rio Grande do Sul, Brasil. **Biota Neotropica**, **8**, 229-240.
- CONTE, C., NOMURA, F., DE ROSSA-FERES, D., D'HEURSEL, A., & HADDAD, C. (2007). The tadpole of *Scinax catharinae* (Anura: Hylidae) with description of the internal oral morphology, and a review of the tadpoles from the *Scinax catharinae* group. **Amphibia-Reptilia**, **28**(2), 177-192.
- CONTE, C.E.; ARAUJO-VIEIRA, K.; CRIVELLARI, L.B. & BERNECK, B.v.M. (2016). A new species of *Scinax* Wagler (Anura: Hylidae) from Paraná, Southern Brazil. **Zootaxa**, **4193**(2): 245-265
- DAYRAT, B. (2005). Towards integrative taxonomy. **Biological journal of the Linnean society**, **85**(3), 407-417.
- DE LA RIVA, I. (1993). A new species of *Scinax* (Anura, Hylidae) from Argentina and Bolivia. **Journal of Herpetology**, **27**: 41-46.
- DE LA RIVA, I.; MÁRQUEZ, R. & BOSCH, J. (1994). Advertisement calls of Bolivian species of *Scinax* (Amphibia, Anura, Hylidae). **Bijdragen tot de Dierkunde**, **64**(2): 75-85.
- DIAS, P. H. D. S., & PIE, M. R. (2021). Buccopharyngeal morphology of the tadpoles of *Scinax v-signatus*/, with comments on larval characters of the *S. perpusillus*/species group (Amphibia: Anura: Hylidae). **Zootaxa**, **4964**(1)
- DRUMMOND, L.O.; BAÊTA, D. & PIRES, M.R.S. (2007). A new species of *Scinax* (Anura, Hylidae) of the *S. ruber* clade from Minas Gerais, Brazil. **Zootaxa**, **1612**(1): 45-63.
- DUELLMAN, W.E. (1970). The hylid frogs of Middle America. **Monograph of the Museum of Natural History, The University of Kansas**, **1**: 1-753.
- DUELLMAN, W.E. (1972A). South American Frogs of the *Hyla rostrata* group (Amphibia, Anura, Hylidae). **Zoologische Mededelingen**, **47**(14): 177-192.
- DUELLMAN, W.E. (1972B). A New Species of *Hyla* from Amazonian Ecuador. **Copeia**, **1972**: 265-271.
- DUELLMAN, W.E. (1986). Two new species of *Ololygon* (Anura: Hylidae) from the Venezuelan Guyana. **Copeia**, **1986**: 864-870.

DUELLMAN, W. E., & PYLES, R. A. (1983). Acoustic resource partitioning in anuran communities. *Copeia*, 639-649.

DUELLMAN, W.E. & WIENS, J.J. (1992). The status of the Hylid frog genus *Ololygon* and the recognition of *Scinax* Wagler, 1830. **Occasional Papers of the Museum of Natural History, University of Kansas**, 151: 1-23.

DUELLMAN, W.E. & WIENS, J.J. (1993). Hylid frogs of the genus *Scinax* Wagler, 1830, in Amazonian Ecuador and Peru. **Occasional Papers of the Museum of Natural History, University of Kansas**, 153: 1-57.

DUELLMAN W.E., MARION A.M., HEDGES S.B., (2016). Phylogenetics, classification, and biogeography of the treefrogs (Amphibia: Anura: Arboranae). *Zootaxa* 4104:1–109.

FAIVOVICH, J. (2002). A cladistic analysis of *Scinax* (Anura: Hylidae). **Cladistics**, 18(4):367-393.

FAIVOVICH, J.; HADDAD, C.F.B.; GARCIA, P.C.A.; FROST, D.R.; CAMPBELL, J.A. & WHEELER, W.C. (2005). Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, 294: 1-240.

FERRÃO, M., COLATRELI, O., DE FRAGA, R., KAEFER, I. L., MORAVEC, J., & LIMA, A. P. (2016). High species richness of *Scinax* treefrogs (Hylidae) in a threatened Amazonian landscape revealed by an integrative approach. *Plos one*, 11(11),

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 interfluve, Brazilian Amazonia (Anura, Hylidae). **ZooKeys**, 706: 137-162

FERRÃO, M.; FRAGA, R.; MORAVEC, J.; KAEFER, I.L. & LIMA, A.P. (2018A). 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.

FERRÃO, M.; MORAVEC, J.; KAEFER, I.L.; FRAGA, R. & LIMA, A.P. (2018B). New species of *Scinax* (Anura: Hylidae) with red-striped eyes from Brazilian Amazonia. **Journal of Herpetology**, 52(4): 473-486.

FONTE, L. F. M. D. (2010). Variação morfológica e na estrutura do canto em *Scinax granulatus* (Peters, 1871) (Anura, Hylidae). Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2010. 76 p.

FOUQUETTE, M. J. (1966). Some hylid frogs of the Canal Zone, with special reference to call structure. **Caribbean journal of science**, 6(3-4), 167-172.

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

FROST, D.R. (2023). Amphibian Species of the World: An Online Reference. Version 6.1. **American Museum of Natural History, USA**. Disponível em: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. Acesso em janeiro de 2023.

GERHARDT, H. C. (1991). Female mate choice in treefrogs: static and dynamic acoustic criteria. **Animal Behaviour** 42:615–635.

GOMES, M. DOS R., ALVES, A. C. R. AND O. L. PEIXOTO. (2014) "O girino de *Scinax nebulosus* (Amphibia, Anura, Hylidae)." **Iheringia. Série Zoologia** **104** (2014): 184-188.

GOSNER, K. L. (1960). A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. **Herpetologica** **16**: 183-190.

GROSJEAN, S. (2005). The choice of external morphological characters and developmental stages for tadpole-based anuran taxonomy: a case study in *Rana (Sylvirana) nigrovittata* (Blyth, 1855)(Amphibia, Anura, Ranidae). **Contributions to Zoology**, **74**(1-2), 61-76.

GUERRA, V., LLUSIA, D., GAMBALE, P. G., MORAIS, A. R. D., MARQUEZ, R., & BASTOS, R. P. (2018). The advertisement calls of Brazilian anurans: Historical review, current knowledge and future directions. **PLoS One**, **13**(1), e0191691.

HAMMER, Ø., HARPER, D.A., & RYAN, P.D. (1999). PAST Paleontological Statistics Reference manual. **Palaeontologia electronica** **4**: 9

HEYER, W.R; RAND, A.S.; CRUZ, C.A.G.; PEIXOTO, O.L. & NELSON, C.E. (1990). Frogs of Boracéia. **Arquivos de Zoologia**, **31**: 231-410.

KASSAMBARA A, MUNDT F. (2017). Package ‘factoextra’. Extract and visualize the results of multivariate data analyses. 2017;76(2).

KLAPPENBACH, M. A., & LANGONE, J. A. (1992). Lista sistemática y sinonímica de los anfibios del Uruguay con comentarios y notas sobre su distribución. In **Anales del Museo Nacional de Historia Natural de Montevideo** (Vol. 8, No. 2, pp. 163-222).

KÖHLER, J.; JANSEN, M.; RODRÍGUEZ, A.; KOK, P.J.R.; TOLEDO, L.F.; EMMERICH, M.; GLAW, F.; HADDAD, C.F.B.; RÖDEL, M.O. & VENCES, M. (2017). The use of bioacoustics in anuran taxonomy: theory, terminology, methods, and recommendations for best practice. **Zootaxa**, **4251**: 1-124.

KOK, P. J., & KALAMANDEEN, M. (2008). Introduction to the taxonomy of the amphibians of Kaieteur National Park, Guyana. **Koninklijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen**.

- KOLENC, F., BORTEIRO, C. & TEDROS, M. (2003) La larva de *Hyla uruguayana* Schmit, 1944 (Anura: Hylidae), con comentarios sobre su biología en Uruguay y su status taxonómico. *Cuadernos de Herpetología*, **17**, 87–100.
- KWET, A. (2001). Südbrazilianische Laubfrosche der Gattung *Scinax* mit Bemerkungen zum Geschlecht des Gattungsnamens und zum taxonomischen Status von *Hyla granulata* Peters, 1871. *Salamandra* **37**:211–238.
- LACERDA, J. V. A., PEIXOTO, O. L., & FEIO, R. N. (2012). A new species of the bromeligenous *Scinax perpusillus* group (Anura; Hylidae) from Serra do Brigadeiro, State of Minas Gerais, Southeastern Brazil. *Zootaxa*, **3271**(1), 31–42.
- LACERDA, J. V. A., FERREIRA, R. B., ARAUJO-VIEIRA, K., ZOCCA, C., & LOURENÇO, A. C. C. (2021). A New Species of *Scinax* Wagler (Amphibia, Anura, Hylidae) from the Atlantic Forest, Southeastern Brazil. *Ichthyology & Herpetology*, **109**(2), 522–536.
- LANGONE, J. A., & CARDOSO, A. J. (1997). Morfología larval externa de *Scinax eringhiophila* (Gallardo, 1961):(Amphibia, Anura, Hylidae). *Comunicaciones Zoológicas Del Museo De Historia Natural De Montevideo*. v. 12, 1997.
- LAVILLA, E. O., & SCROCCHI, G. J. (1986). Morfometría larval de los géneros de Telmatobiinae (Anura: Leptodactylidae) de Argentina y Chile. *Physis*, **44**(106), 39–43.
- LÊ, S., JOSSE, J., & HUSSON, F. (2008). FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software*, **25**(1), 1–18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- LESCURE, J., MARTY, C., & MARTY, C. (2000). *Atlas des amphibiens de Guyane* (Vol. 45). Paris: Publications Scientifiques du MNHN.
- LIMA, L.P., BASTOS, R.P., GIARETTA, A.A. (2004): A new *Scinax* Wagler, 1839 of the *S. rostratus* group from central Brazil (Amphibia, Anura, Hylidae). *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro* **62**: 505–512.
- LLEONART, J., SALAT, J., & TORRES, G.J. (2000). Removing allometric effects of body size in morphological analysis. *Journal of theoretical Biology*, **205**(1), 85–93. <https://doi.org/10.1006/jtbi.2000.2043>.
- LOPES, A. G., LEE BANG, D., & GIARETTA, A. A. (2019). Revisiting the advertisement call features of *Scinax montivagus* (Anura: Hylidae). *Neotropical Biodiversity*, **5**(1), 41–46.
- LOURENÇO, A. C. C., ZINA, J., CATROLI, G. F., KASAHARA, S., FAIVOVICH, J., & HADDAD, C. F. (2016). A new species of the *Scinax catharinae* group (Anura: Hylidae) from southeastern Brazil. *Zootaxa*, **4154**(4), 415–435.
- LOURENÇO, A.C.C.; LINGNAU, R.; HADDAD, C.F. & FAIVOVICH, J. (2019). A New species of the *Scinax catharinae* group (Anura: Hylidae) from the highlands of

Santa Catarina, Brazil. **South American Journal of Herpetology**, **14**(3): 163-176.

LUNA, M.C.; MCDIARMID, R.W. & FAIVOVICH, J. (2018). From erotic excrescences to pheromone shots: structure and diversity of nuptial pads in anurans. **Biological Journal of the Linnean Society**, **124**(3): 403-446

LUTZ, B. (1973). **Brazilian Species of Hyla**. University of Texas Press, Austin & London. 260p.

LYNCH, J. D., & SUAREZ MAYORGA, A. M. (2011). An illustrated key to the tadpoles in the eastern lowlands of Colombia, with emphasis on the Hylidae. *Caldasia*, **33**(1), 235-270.

LYNCH, J. D., & DUELLMAN, W. E. (1997). Frogs of the genus *Eleutherodactylus* (Leptodactylidae) in western Ecuador: Systematic, ecology, and biogeography. **Natural History Museum, University of Kansas**.

MAGRINI, L.; CARVALHO-E-SILVA, S.P.; BÉDA, A.F. & GIARETTA, A.A. (2011). Calls of five species of the *Scinax ruber* (Anura: Hylidae) clade from Brazil with comments of their taxonomy. **Zootaxa**, **3066**(1): 37-51

MALLERET, M. M., FREIRE, M. D., LEMES, P., BRUM, F. T., CAMARGO, A., & VERRASTRO, L. (2022). Phylogeography and species delimitation of the Neotropical frog complex (Hylidae: *Scinax granulatus*). **Zoologica Scripta**, **51**(3), 330-347.

MENEZES, L., CANEDO, C., BATALHA-FILHO, H., GARDA, A. A., GEHARA, M., & NAPOLI, M. F. (2016). Multilocus phylogeography of the treefrog *Scinax eurydice* (Anura, Hylidae) reveals a plio-pleistocene diversification in the Atlantic Forest. **PLoS One**, **11**(6), e0154626.

MERCÊS, E. A., & JUNCA, F. A. (2012). The tadpole of *Scinax juncae* Nunes & Pombal, 2010 (Anura, Hylidae). **Zootaxa**, **3416**(1), 41-43.

MORAVEC, J.; TUANAMA, I.A.; PEREZ, P.E. & LEHR, E. (2009). A new species of *Scinax* (Anura: Hylidae) from the Area of Iquitos, Amazonian Peru. **South American Journal of Herpetology**, **4**(1): 9-16

MYERS, C. W., & DUELLMAN, W. E. (1982). A new species of *Hyla* from Cerro Colorado, and other tree frog records and geographical notes from western Panama. **American Museum novitates**; no. 2752.

NAPOLI, M.F. & CARAMASCHI, U. (1998). Duas novas espécies de *Hyla* Laurenti, 1768 do Brasil central afins de *H. tritaeniata* Bokermann, 1965 (Amphibia, Anura, Hylidae). **Boletim do Museu Nacional, Nova Série, Zoologia**, **391**: 1-12

- NOVAES, G. & ZINA, J. (2016). Advertisement call of *Scinax camposseabrai* (Bokermann, 1968) (Anura: Hylidae), with comments on the call of three species of the *Scinax ruber* clade. **Zootaxa**, **4084**(2): 258-266.
- NOVAES-FAGUNDES, N. E., DE ARAUJO VIEIRA, K., ENTIAUSPE NETO, O. M., ROBERTO, I. J., ORRICO, V. G., SOLÉ, M., ... & LOEBMANN, D. (2021). A new species of *Scinax* Wagler (Hylidae: Scinaxini) from the tropical forests of Northeastern Brazil. **Zootaxa** 4903 (1): 001–041.
- NUNES, I. & POMBAL JR., J.P. (2010). A new *Scinax* Wagler (Amphibia, Anura, Hylidae) from the Atlantic Rain Forest remains of southern State of Bahia, North-eastern Brazil. **Amphibia-Reptilia**, **31**(3): 347-353.
- NUNES, I. & POMBAL JR., J.P. (2011). A new snouted treefrog of the speciose genus *Scinax* Wagler (Anura, Hylidae) from northeastern Brazil. **Herpetologica**, **67**(1): 80-88.
- NUNES, I., SANTIAGO, R. S., & JUNCÁ, F. A. (2007). Advertisement calls of four Hylid frogs from the state of Bahia, Northeastern Brazil (Amphibia, Anura, Hylidae). **South American Journal of Herpetology**, **2**(2), 89-96.
- NUNES, I.; CARVALHO JR., R.R. & PEREIRA, E.G. (2010). A new species of *Scinax* Wagler (Anura: Hylidae) from Cerrado of Brazil. **Zootaxa**, **2514**(1): 24-34.
- NUNES, I.; KWET, A. & POMBAL JR., J.P. 2012. Taxonomic revision of the *Scinax alter* species complex (Anura: Hylidae). **Copeia**, **2012**: 554-569.
- OLSON, D.M.; DINERSTEIN, E.; WIKRAMANAYAKE, E.D.; BURGESS, N.D.; POWELL, G.V.N., UNDERWOOD E.C.; D'AMICO, J.A.; ITOUA, I.; STRAND, H.E.; MORRISON, J.C.; LOUCKS, C.J.; ALLNUTT, T.F.; RICKETTS, T.H.; KURA, Y.; LAMOEUX, J.F.; WETTENGEL, W.W.; HEDAO, P. & KASSEM, K.R., (2001). Terrestrial ecoregions of the world: A new map of life on earth. **BioScience**. **51**, 933-938.
- PADIAL, J. M., MIRALLES, A., DE LA RIVA, I., & VENCES, M. (2010). The integrative future of taxonomy. **Frontiers in zoology**, **7**(1), 1-14.
- PEIXOTO, O. L. (1987). Caracterização do grupo *perpusilla* e revalidação da posição taxonômica de *Ololygon perpusilla perpusilla* e *Ololygon perpusilla v-signata* (Amphibia, Anura, Hylidae). **Arquivos da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro**, **10**(1-2), 37-49.
- PEZZUTI, T. L., LEITE, F. S. F., ROSSA-FERES, D. D. C., & GARCIA, P. C. A. (2021). The tadpoles of the Iron Quadrangle, Southeastern Brazil: a baseline for larval knowledge and anuran conservation in a diverse and threatened region. **South American Journal of Herpetology**, **22**(sp1), 1-107.

- POMBAL JR, J. P., & GORDO, M. (1991). Duas novas espécies de *Hyla* da Floresta Atlântica no estado de São Paulo (Amphibia, Anura). **Mem. Inst. Butantan**, **53**(11), 135-144.
- POMBAL JR., J.P.; HADDAD, C.F.B. & KASAHARA, S. (1995A). A new species of *Scinax* (Anura: Hylidae) from southeastern Brazil, with comments on the genus. **Journal of Herpetology**, **29**: 1-6.
- POMBAL JR., J.P.; BASTOS, R.P. & HADDAD, C.F.B. (1995B). Vocalizações de algumas espécies do gênero *Scinax* (Anura, Hylidae) do sudeste do Brasil e comentários taxonômicos. **Naturalia**, **20**: 213-225
- POMBAL JÚNIOR, J. P., & BASTOS, R. P. (1996). Pombal Jr., J.P., Bastos, R.P., 1996. Nova espécie de *Scinax* Wagler, 1830 do Brasil central (Amphibia, Anura, Hylidae). **Bol. Mus. Nac. Rio de Janeiro, N.S., Zool.** **371**, 1–11.
- POMBAL JR, J. P., CARVALHO JR, R. R., CANELAS, M. A. S., & BASTOS, R. P. (2010). A new *Scinax* of the *S. catharinae* species group from Central Brazil (Amphibia: Anura: Hylidae). **Zoologia (Curitiba)**, **27**, 795-802.
- PUGLIESE, A.; BAËTA, D. & POMBAL JR., J.P. (2009). A new species of *Scinax* (Anura: Hylidae) from rocky montane fields in southeastern and central Brazil. **Zootaxa**, **2269**: 53-64.
- PUGLIESE, A.; POMBAL JR., J.P. & SAZIMA, I. (2004). A new species of *Scinax* (Anura: Hylidae) from rocky montane fields of the Serra do Cipó, Southeastern Brazil. **Zootaxa**, **688**(1): 1-5.
- PYBURN, W.F. (1992). A new tree frog of the genus *Scinax* from the Vaupes River of northwestern Brazil. **The Texas Journal of Science**, **44**(4): 405-411
- PYBURN, W.F. & FOUQUETTE, M.J. (1971). A new striped treefrog from Central Colombia. **Journal of Herpetology**, **5**: 97-101.
- R CORE TEAM (2021) R: a language and environment for statistical computing, version 3.5.0. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Available from <http://www.r-project.org> (accessed 10 November 2022)
- ROSSA-FERES, D. D. C., GAREY, M. V., CARAMASCHI, U., NAPOLI, M. F., NOMURA, F., BISPO, A. A., ... & CONTE, C. E., (2017). Anfíbios da Mata Atlântica: lista de espécies, histórico dos estudos, biologia e conservação. **Revisões em Zoologia: Mata Atlântica**, **1**, 237-314.
- SANTOS, D. L., GAMBALE, P. G., BASTOS, R. P., & NOMURA, F. (2019). The Tadpole of *Scinax constrictus* Lima, Bastos & Giaretta, 2004 (Amphibia, Hylidae). **Journal of Herpetology**, **53**(1), 62-67.

- SUEUR, J., AUBIN, T., SIMONIS, C. (2008): Seewave a free modular tool for sound analysis and synthesis. **Bioacoustics** **18**: 213–226.
- SANTOS, L. R., & MARTINS, I. A. (2017). Bioacoustic analysis in *Scinax hayii* (Barbour, 1909) (Anura, Hylidae) at its type locality in Petrópolis, Rio de Janeiro, Brazil. **Zootaxa**, **4232**(4), 582-584.
- SAVAGE, J.M. & HEYER, W.R. (1967). Variation and distribution in the tree-frog genus *Phyllomedusa* in Costa Rica, Central America. **Beitrag zur Neotropischen Fauna**, **5**(2): 111-131
- SILVA, H. R., & ALVES-SILVA, R. (2008). New coastal and insular species of the bromeligenous *Scinax perpusillus* group, from the State of Rio de Janeiro, Brazil (Anura, Hylidae). **Zootaxa**, **1914**(1), 34-44.
- SILVA, H. R., & ALVES-SILVA, R. (2011). A new bromeligenous species of the *Scinax perpusillus* group from the hills of the State of Rio de Janeiro, Brazil (Anura, Hylidae). **Zootaxa**, **3043**(1), 54-68.
- STURARO, M.J. & PELOSO, P.L.V. (2014). A new species of *Scinax* Wagler, 1830 (Anura: Hylidae) from the middle Amazon River basin, Brazil. **Papéis Avulsos de Zoologia**, **54**(2): 9-23.
- TOLEDO, L. F., & HADDAD, C. F. (2005). Acoustic repertoire and calling behavior of *Scinax fuscomarginatus* (Anura, Hylidae). **Journal of Herpetology**, **39**(3), 455-464.
- VENABLES, WN., & RIPLEY, BD. (2002). Modern Applied Statistics with S, (4th ed.). Springer, New York. ISBN 0-387-95457-0
- WACHLEVSKI, M., & ROCHA, C. F. D. (2010). Amphibia, Anura, restinga of Baixada do Maciambu, municipality of Palhoça, state of Santa Catarina, southern Brazil. **Check List**, **6**(4), 602-604.
- WICKHAM, H. (2016). ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag York, p. 1-211.

Appendix 1. Specimens Examined

Scinax granulatus: Brazil, Rio Grande do Sul, **Alegrete** (ZUFMS 11646), **Bom Jesus**: (UFRGS 4126), **Canguçu**: (UFRGS 5385), **Cerro Largo**: (UFRGS 3381, 4157, 4158), **Lavras**: (ZUFMS 1578-80), **São Lourenço do Sul**: (UFRGS 5348), **Pinheiro Machado**: (UFRGS 6796), **Porto Alegre** (MMM 26, MMM 27 topotypes), **Santana da Boa Vista**: (UFRGS 5417, ZUFMS 10495, 10502), **Nonoai**: (UFRGS 4346), **Santa Maria** (UFRGS 7448), **São Francisco de Paula**: (UFRGS 7463), **São Gabriel**: (ZUFMS 10480), **Soledade** (ZUFMS 10647); Santa Catarina: **Anita Garibaldi**: (UFRGS 4021), **Arvoredo**: (UFRGS 4274-5), **Campo Belo do Sul**: (UFRGS 4063), **Campos Novos**: (CFBH 13630); Uruguay, **Arachania**: (CURB-CB 549), **Cerro Largo** (CURCB 423), **Mariscal**: (CURCB 614), **Montevideo**: (CURCB 510), **Rivera**: (CURCB 617), **Soriano**: (CURCB 588).

Scinax fuscovarius: Brazil, Rio Grande do Sul, **Alegrete**: (UFRGS 4574), **Cotiporã**: (UFRGS 6392), **Caçapava do Sul**: (UFRGS 7491), **Jaquirana**: (UFRGS 6415), **São Jerônimo**: (UFRGS 5992), **Mostardas**: (UFRGS 6565), **Tapes**: (UFRGS 7046), **Viamão**: (UFRGS 6702); Santa Catarina, **Itá**: (UFRGS 6457), **Cerro Negro**: (UFRGS 7436)

Scinax nasicus: Brazil, Rio Grande do Sul, **Bom Retiro**: (UFRGS 7107), **Imbé**: (UFRGS 5925, 6445), **Guaíba**: (UFRGS 2498-9), **Itaqui**: (UFRGS 3537, 3541), **Manoel Viana**: (UFRGS 4458-9), **Palmares do Sul**: (UFRGS 6656), **Porto Alegre**: (UFRGS 7417), **Triunfo**: (UFRGS 3338), **Uruguaiana**: (UFRGS 1775)

Scinax perereca: Brazil, Rio Grande do Sul, **Bom Jesus** (UFRGS 3315), **Derrubadas** (UFRGS 2173, 2175), **Itati**: (UFRGS 2321, 2332), **São Francisco de Paula**: (UFRGS 2033), **Terra de Areia** (UFRGS 1719, 1751), **Planalto** (UFRGS 1455); Santa Catarina, **Arvoredo** (UFRGS 5189), **Campo Belo do Sul** (UFRGS 4112-3), **Itapema**: (UFRGS 1503), **São Bento do Sul**: (UFRGS 3480), **Siderópolis**: (UFRGS 6616); São Paulo, **Cotia** (UFRGS 5542)

Appendix 2. Acoustic parameters of *Scinax sp. nov.* from four distinct populations and from *S. granulatus*, *fuscovarius*, *S. perereca* and *S. nasicus*. Parameters analyzed: CD - Call duration (s), CI - Call interval (s), P - Number of pulses, PI - Intervals between pulses (s), PP - Period of pulses (s), Ps - Pulses per sec, FP - Frequency peak, D1P - First pulse duration, FP1 - Frequency peak first pulse, DmP - medium pulse duration, FPM - Frequency peak medium pulse, DfP - Last pulse duration, FPF - Frequency peak last pulse, Nm - Number recorded males, Nc - Number of calls, Np - Number of pulses and T- air temperature (°C). Values are presented as mean \pm standard deviation (range). For detailed information on acoustic data and localities see - Material and Methods section.

Locality/species	CD	CI	P	PI	PP	Ps	FP	DIP	FP1	DmP	FPm	DIP	FPF	Nc	Np	T
Torres (RS) <i>S. sp. nov.</i> N=1	0.265 ± 0.036 (0.167–0.332)	0.532 ± 0.316 (0.338–2.122)	9.5 ± 1.3 (6–12)	0.006 ± 0.000 (0.004–0.010)	0.027 ± 0.001 (0.021–0.030)	36.04 ± 0.34 (35.30–36.64)	1.300 ± 0.187 (1.550–2.411)	0.019 ± 0.000 (0.017–0.021)	1.237 ± 0.047 (1.119–1.291)	0.022 ± 0.000 (0.019–0.024)	1.287 ± 0.19 (1.205–1.291)	0.022 ± 0.000 (0.021–0.024)	1.464 ± 0.553 (1.291–3.186)	33	316	20
Capão da Canoa (RS) <i>S. sp. nov.</i> N=3	0.273 ± 0.055 (0.130–0.348)	0.632 ± 0.771 (0.360–5.186)	10.3 ± 2.2 (5–14)	0.004 ± 0.002 (0.001–0.010)	0.026 ± 0.001 (0.020–0.031)	37.69 ± 1.36 (36.31–40.44)	1.957 ± 0.921 (602–3.617)	0.019 ± 0.001 (0.015–0.022)	1.329 ± 0.071 (1.205–1.464)	0.022 ± 0.001 (0.017–0.028)	2.011 ± 938 (602–3.617)	0.024 ± 0.002 (0.020–0.030)	2.138 ± 998 (1.291–3.617)	51	526	18
Itati (RS) <i>S. sp. nov.</i> N=1	0.242 ± 0.030 (0.183–0.277)	0.775 ± 1.585 (0.366–8.376)	8.8 ± 1.1 (7–10)	0.008 ± 0.001 (0.004–0.012)	0.027 ± 0.002 (0.018–0.031)	36.61 ± 0.49 (35.95–38.07)	2.791 ± 0.684 (1.125–3.187)	0.016 ± 0.002 (0.013–0.019)	1.146 ± 0.061 (1.125–1.312)	0.019 ± 0.001 (0.014–0.024)	2.987 ± 366 (1.312–3.187)	0.021 ± 0.001 (0.018–0.023)	3.086 ± 404 (1.125–3.187)	26	231	20.8
Arroio do Silva (SC) <i>S. sp. nov.</i> N=3	0.275 ± 0.042 (0.172–0.335)	1.433 ± 3.220 (0.389–22.259)	9.8 ± 1.5 (6–12)	0.007 ± 0.001 (0.003–0.015)	0.028 ± 0.002 (0.017–0.033)	35.55 ± 0.88 (33.42–37.73)	1.312 ± 0.262 (689–5.770)	0.018 ± 0.002 (0.009–0.024)	1.484 ± 0.764 (1.205–5.770)	0.021 ± 0.002 (0.015–0.025)	1.293 ± 93 (689–3.014)	0.022 ± 0.002 (0.017–0.025)	1.291 ± 0 (1.291–1.291)	54	530	18
Porto Alegre (RS) <i>S. granulatus</i> N=1	0.111 ± 0.013 (0.084–0.129)	1.783 ± 6.233 (0.311–52.172)	6.2 ± 0.6 (5–7)	0.004 ± 0.001 (0.001–0.010)	0.017 ± 0.001 (0.012–0.0212)	56.19 ± 1.09 (54.04–59.26)	1.596 ± 0.409 (1.291–3.186)	0.009 ± 0.001 (0.005–0.014)	1.576 ± 0.371 (1.291–3.186)	0.014 ± 0.000 (0.012–0.017)	1.602 ± 0.412 (1.291–3.014)	0.015 ± 0.000 (0.013–0.018)	1.590 ± 433 (1.291–3.014)	75	469	18
Viçosa (MG) <i>S. fuscovarius</i> N=1	0.201 ± 0.016 (0.165–0.230)	4.550 ± 5.036 (1.476–21.321)	9.6 ± 0.8 (8–11)	0.002 ± 0.0005 (0.001–0.003)	0.020 ± 0.001 (0.016–0.022)	47.97 ± 0.56 (46.36–48.57)	1.709 ± 1.040 (937–3.375)	0.018 ± 0.0004 (0.017–0.019)	950 ± 48 (937–1.125)	0.019 ± 0.0005 (0.017–0.020)	1.907 ± 1.084 (937–3.375)	0.018 ± 0.0009 (0.016–0.019)	950 ± 48 (937–1.125)	15	145	23
Ribeirão Branco (SP) <i>S. perereca</i> N=1	0.364 ± 0.020 (0.337–0.405)	1.360 ± 0.230 (0.899–1.750)	22.6 ± 1.2 (21–25)	0.001 ± 0.0005 (0.0005–0.004)	0.016 ± 0.0007 (0.011–0.0229)	62.0 ± 0.37 (61.43–62.70)	1.318 ± 0.31 (1.125–1.406)	0.014 ± 0.001 (0.010–0.016)	1.276 ± 0.065 (1.125–1.406)	0.014 ± 0.0005 (0.012–0.019)	1.320 ± 0.28 (1.218–1.406)	0.015 ± 0.0006 (0.014–0.016)	1.312 ± 0 (1.312–1.312)	18	362	21
Mariano Roque (Paraguay) <i>S. nasiscus</i> N=1	0.061 ± 0.002 (0.058–0.068)	0.178 ± 0.072 (0.123–0.491)	6.2 ± 0.4 (6–7)	0.0001 ± 0.0001 (0–0.0003)	0.009 ± 0.0024 (0.005–0.020)	100.6 ± 4.88 (87.24–112.57)	1.784 ± 1.113 (1.033–4.048)	0.011 ± 0.0006 (0.010–0.013)	1.270 ± 0.107 (1.033–1.378)	0.008 ± 0.0008 (0.005–0.011)	1.561 ± 923 (1.119–3.962)	0.013 ± 0.002 (0.007–0.020)	3.238 ± 1.244 (1.119–4.048)	32	199	24.2

Supplementary Materials.

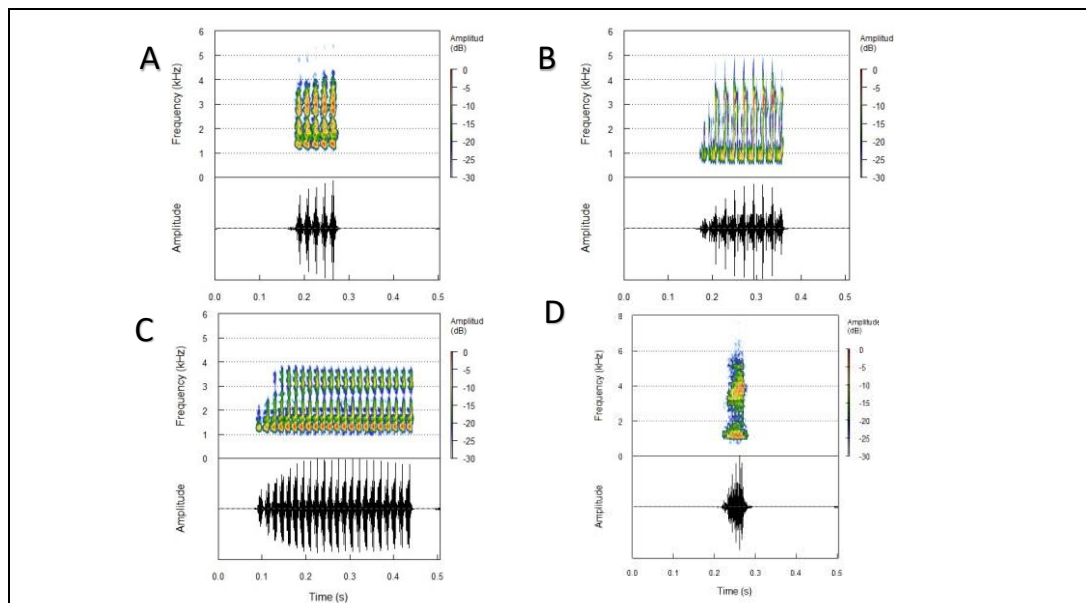


Figure S1. Spectrogram (top) and oscillogram (bottom) of the advertisement call of (A) *Scinax granulatus* from topotypical population of municipality of Porto Alegre, Rio Grande do Sul state, Brazil, (B) *Scinax fuscovarius*, municipality of Viçosa, Minas Gerais state, Brazil (C) *Scinax perereca*, topotypical population, municipality of Ribeirão Branco, São Paulo state, Brazil and (D), municipality of Mariano Roque Alonso, Departamento Central, Paraguay.

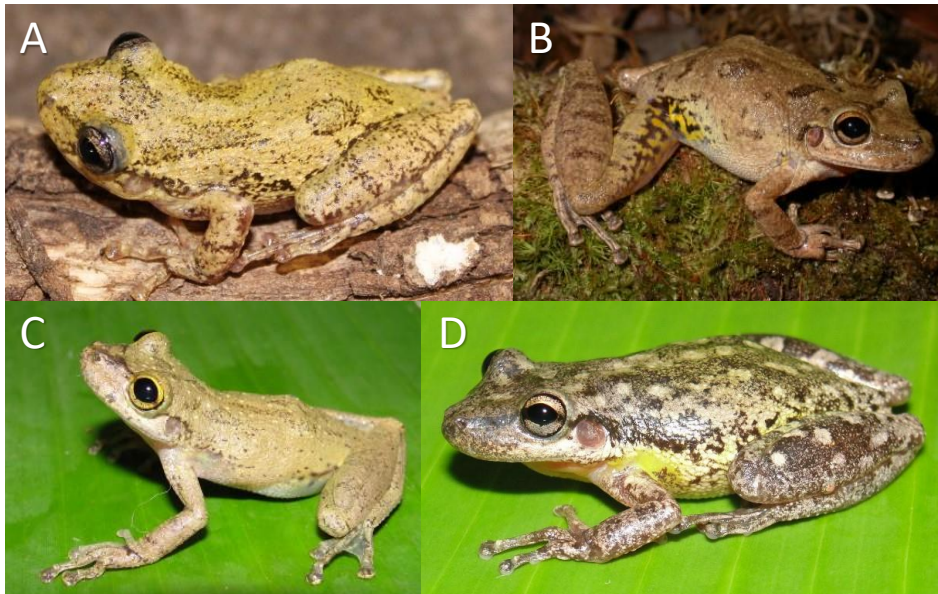


Figure S2. General color pattern of living males specimens from (A) *Scinax granulatus*, municipality of Porto Alegre, Rio Grande do Sul state, Brazil (B) *Scinax fuscovarius*, municipality of Triunfo, Rio Grande do Sul state, Brazil, (C) *Scinax perereca*, municipality of Lauro Muller, Santa Catarina state, Brazil and (D) *Scinax nasicus*, municipality of Palmares do Sul, Rio Grande do Sul state, Brazil. Photos credits: (A) and (B) courtesy of Mathias M. Malleret and Marcio Borges-Martins, respectively, (C, D) M. D. Freire.

Table S1. Loadings from linear discriminant analyses (LDA) of morphological variables. We exhibited the first two discriminant axes based on the adult morphological characteristics, using five *Scinax* species, *S. granulatus* (N=32), *S. sp. nov.* (N=12), *S. nasicus* (N=13), *S. fuscovarius* (N=10) and *S. perereca* (N=16). Also, we represented the only discriminant axis based on the tadpole morphology dataset, using on *S. granulatus* (N=20) and *S. sp. nov.* (N=32) as predictor groups.

Variables	Adults		Variables	Tadpoles
	LD1	LD2		LD1
SVL	-42.08	17.18	VFH	-30.30
HL	-4.25	11.95	TL	-40.73
HW	2.37	-22.97	TAL	50.31
IOD	5.74	-6.88	BMW	11.08
TD	-14.90	21.91	BWE	-24.17
TB	-59.56	-2.68	BMH	-8.48
FL	-13.65	-40.67	TMH	1.22
HAL	45.23	19.48	RSD	-8.08
FR	4.29	4.28	N	5.71
-	-	-	ESD	-11.05
-	-	-	ED	41.84
-	-	-	IOD	-7.29
-	-	-	OD	2.03
-	-	-	DG	-5.44
-	-	-	DFH	-6.97
Variance (%)	58.54	35.16	Variance(%)	100

Loading values of the variables that more contribute to each discriminant axis are highlighted in bold.

Table S2. Confusion matrix of the classification resulting from the Linear Discriminant analysis conducted with adult morphometric variables, based on 32 individuals *S. granulatus*, 12 of *S. sp. nov.*, 13 of *S. nasicus*, 10 individuals of *S. fuscovarius* and 16 of *S. perereca*. The Jackknifed statistic indicated that 66.27% of individuals were correctly classified.

	Sg	Ssn	Sn	Sf	Sp	Total
<i>S. granulatus</i> Sg	23	5	0	0	4	32
<i>S. sp. nov.</i> Ssn	2	3	3	2	2	12
<i>S. nasicus</i> Sn	1	2	7	2	1	13
<i>S. fuscovarius</i> Sf		1	1	8	0	10
<i>S. perereca</i> Sp	2	0	0	0	14	16
Total	28	11	11	12	21	83

Table S3. Result of Permutational analysis de variance (PERMANOVA) showing differences among species, using the adult morphological dataset. F statistics below of the diagonal, and p values above of the diagonal. Showing in bold the significant p-values with $p < 0.01$

Permutation N	Total SumOfSqs	Within-group SumOfSqs	F	p value
10000	3.298	2.654	12.14	0.0001

	Pairwise PERMANOVA post-hoc test				
	Sg	Ssn	Sn	Sf	Sp
<i>S. granulatus</i> Sg	-	0.0001	0.0001	0.0001	0.0002
<i>S. sp. nov.</i> Ssn	5.85	-	0.1253	0.2411	0.002
<i>S. nasicus</i> Sn	14.51	1.74	-	0.0072-	0.0001
<i>S. fuscovarius</i> Sf	7.42	1.33	3.46	-	0.0001
<i>S. perereca</i> Sp	7.16	4.25	6.68	9.14	-

Table S4. Confusion matrix of the classification resulting from the Linear Discriminant analysis conducted with tadpole morphometric variables based on 20 individuals of *S. granulatus* and 32 of *S. sp. nov.* The Jackknifed statistic indicated that 100% of individuals were correctly classified.

	Sg	Ssn	Total
<i>S. granulatus</i> Sg	20	0	20
<i>S. sp. nov.</i> Ssn	0	32	32
Total	20	32	52

Table S5. Result of Permutational analysis de variance (PERMANOVA) showing differences among species, using the tadpole morphological dataset. F statistics below of the diagonal, and p values above of the diagonal. Showing in bold the significant p-values with $p < 0.01$

Permutation N	Total SumOfSqs	Within-group SumOfSqs	F	p value
10000	3.298	2.654	12.14	0.0001

Pairwise PERMANOVA post-hoc test	
	Ssn
<i>S. granulatus</i>	0.0001
<i>S. sp. nov.</i>	-

Table S6. Results of Principal Component Analyses (PCA) based on bioacoustic variables, based on 13 male individuals of *Scinax*, *S. granulatus* (N=2), *S. sp. nov.* (N=8), *S. fuscovarius* (N=1), *S. perereca* (N=1) and *S. nasicus* (N=1).

Variables	PC1	PC2	PC3
Call duration	0.887423	0.419214	0.180663
N° of pulses	0.61127	0.742493	0.268469
Pulse period	0.816962	-0.56498	-0.09591
Pulse rate	-0.83924	0.528539	0.101124
Frequency peak (Hz)	-0.18271	-0.43376	0.882308
Variance (%)	51.32	30.27	18.05

Loading values of the variables that more contribute to each discriminant axis are highlighted in bold.

Table S7. Result of Permutational analysis de variance (PERMANOVA) showing differences among species, using the advertisement call dataset. F statistics below of the diagonal, and p values above of the diagonal. Showing in bold the significant p-values with $p < 0.01$

Permutation N	Total SumOfSqs	Within-group SumOfSqs	F	p value	
10000	10.97	2.775	107	0.0001	
Pairwise PERMANOVA post-hoc test					
	Sg	Ssn	Sn	Sf	Sp
<i>S. granulatus</i> Sg	-	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
<i>S. sp. nov.</i> Ssn	70.2	-	0.0001	0.0011	0.0001
<i>S. nasicus</i> Sn	1971	142.7	-	0.0001	0.0001
<i>S. fuscovarius</i> Sf	54.84	7.55	145.8	-	0.0001
<i>S. perereca</i> Sp	83.88	129.4	597.9	70.1	-



Correspondence

<https://doi.org/10.11646/zootaxa.5129.3.8>
<http://zoobank.org/urn:lsid:zoobank.org:pub:2ECE2DED-7537-4FC2-AF98-3E599A5699CD>

Accepted by F. Candioti: 13 Apr. 2022; published: 28 Apr. 2022

The tadpole of the red-bellied toad, *Melanophryniscus dorsalis* (Mertens, 1933) (Anura: Bufonidae)

MARCELO D. FREIRE^{1*}, RUTH A. REGNET^{2,3}, IBERE F. MACHADO⁴,
 DANIEL LOEBMANN⁵ & LAURA VERRASTRO^{1,6}

¹Laboratório de Herpetologia, Departamento de Zoologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul—UFRGS, Programa de Pós Graduação em Biologia Animal, Brazil.

²LIB, Museum Koenig Bonn, Leibniz Institute for the Analysis of Biodiversity Change, Adenauerallee 127, D-53113 Bonn, Germany. regnet_ruth@hotmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-6929-4084>

³Programa de Pós Graduação em Zoologia, Universidade Estadual de Santa Cruz—UESC, Ihéus, Bahia, Brazil ⁴Instituto Boitatá de Etobiologia e Conservação da Fauna—IBEC, Goiânia, Brazil. iberemachado@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0001-8936-0536>

⁵Laboratório de Vertebrados, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande—FURG, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brazil. daniel.loebmann@furg.br; <https://orcid.org/0000-0003-0106-7197>

⁶ lauraver@ufrgs.br; <https://orcid.org/0000-0002-3094-8906>

*Corresponding author. mduartefreire@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0002-5769-1215>

The neotropical genus *Melanophryniscus* Gallardo, known as the South American red-bellied toads, comprises a group of small, charismatic, and intriguing toad species. Currently, 31 species plus several undescribed lineages are known, distributed from southeastern Brazil to central and northern Argentina, Uruguay, Paraguay and Bolivia (Baldo *et al.* 2014; Zank *et al.* 2014; Pie *et al.* 2017; Frost 2022). Three phenetic groups are recognized based on external morphology, coloration patterns, tadpole morphology, and reproductive habitat: *M. moreirae* group, mainly phytotelma-breeding species; *M. tumifrons* group, inhabiting lotic temporary or permanent streams; and *M. stelzneri* group, in temporary ponds and lentic water bodies; additionally, there are some species not assigned to any group (Cruz & Caramaschi 2003; Baldo *et al.* 2014). A comprehensive

review based on the comparative morphology of *Melanophryniscus* larvae adds a significant amount of information for the study of external and internal tadpole morphology (Baldo *et al.* 2014). Although that enhances the understanding of genus diversity, nine species still have their tadpole undescribed (Baldo *et al.* 2014 and references therein). *Melanophryniscus dorsalis* (*M. stelzneri* group) is a small threatened toad that occurs in a limited distributional range and under strong anthropogenic pressure, along the areas of the coastal lowlands of Rio Grande do Sul and Santa Catarina States, in southern Brazil (Haddad *et al.* 2016; IUCN 2020, and references therein). In this work, we describe the external morphology of the tadpole of *M. dorsalis* and compare it with the currently available literature of tadpole descriptions in the genus.

Nine adult individuals (five females and four males) were captured during a reproductive event (October 10, 2017) in Marambaia locality, Ilha dos Marinheiros, municipality of Rio Grande (31°58'-32°02' S, 52°05'-52°12' W), Rio Grande do Sul State, southern Brazil (see Quintela *et al.* 2007 for detailed reproductive habitat description). Individuals were maintained in laboratory conditions to obtain the clutches and larval stages. Tadpoles were maintained in captivity until they reached developmental Stages 29 to 40 (Gosner 1960). A total of 29 tadpoles were euthanized and preserved in 5% formalin. Voucher specimens are housed at the herpetological collection of Universidade Federal do Rio Grande (CHFURG 6101; Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brazil) and Museu de Ciências Naturais da Secretaria do Meio Ambiente e Infraestrutura do Rio Grande do Sul (MCN 14349; Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil). Larval characters were examined and measured to the nearest 0.1 millimeters using a micrometric ocular attached to a stereoscopic microscope (Motic SMZ 168 TL). Drawings of one specimen (Stage 31) and photographs of oral disc structures were taken using a stereoscopic and optical microscope (Zeiss Standart AXiostar) with a digital camera (Canon A620 Dc capture). Labial teeth were observed in scanning electron microscope (SEM; Jeol JSM 52000). The terminology and measurements included twenty-four morphometric variables from: 1) McDiarmid & Altig (1999): total length (TL), body length (BL), tail length (TAL), tail musculature height (TMH), maximum tail height (MTH), internarial distance (IND), interorbital distance (IOD), and tail musculature width (TMW); 2) Lavilla & Scrocchi (1986): body maximum width (BMW), body width at nostrils level (BWN), body width at eye level (BWE), body maximum height (BMH), rostrum-spiracular distance (RSD), fronto-nasal distance (FN), eye-nostril

distance (END), nostril major axis (N), extra nasal distance (EN), eye diameter (E), extraocular distance (EOD), oral disc width (OD), dorsal gap length (DG) and ventral gap length (VG); 3) Grosjean (2005): dorsal fin height (DFH) and ventral fin height (VFH). All measures are shown in millimeters and given as mean \pm SD, range values (min-max), and proportions of measurements follow Baldo *et al.* (2010).

At Stages 29 to 39 (Fig. 1; Table 1) tadpoles have approximately 15 mm of TL (14.67 ± 2.17), slightly depressed body (BMH/BMW = 0.89 ± 0.09), oval in dorsal view and rounded in lateral view, with greater width close to the base of the spiracle. Body length slightly greater than 1/3 of total length (BL/TL = 0.38 ± 0.02) and width ca. 2/3 of body length (BMW/BL = 0.72 ± 0.06). Snout rounded in lateral and dorsal view; nostrils small (N/BMW = 0.05 ± 0.01) and rounded, nostril aperture directed dorsolaterally (END/BWE = 0.34 ± 0.05), with well-developed edge projection; nostrils positioned closer to the tip of the snout than to the eyes (FN/EN = 0.83 ± 0.16). Eyes large (E/BWE = 0.22 ± 0.02) and dorsal (IOD/BWE = 0.57 ± 0.07) oriented dorsolaterally. Spiracle sinistral, short, directed dorsolaterally and located at the posterior portion of the body (RSD/BL 0.79 ± 0.04), visible dorsally and laterally, with internal wall merged into the body wall; spiracle opening narrow and oval (Fig. 1A, B). Digestive tract displaced from the center of the abdomen. Vent tube conical, opening in dextral position and connected to the ventral fin on its right margin and directed posteriorly. Pineal end-organ evident in the portion of the anterior edge of the body in an equidistant position between the eyes (Fig. 1C), as a small clear non-pigmented spot. Tail mid-sized (TAL/TL 0.61 ± 0.03), slightly higher than the body (MTH/BMH = 1.07 ± 0.10), tip rounded; tail musculature with evident myotomes, gradually tapering towards the tip, not reaching the tail end; dorsal fin medium height (DFH/MTH = 0.37 ± 0.02), slightly convex and higher than the ventral one (DFH/VFH = 1.11 ± 0.08), originated at the posterior third of the body; ventral fin originated at the level of the vent tube. Oral disc (Fig. 1D) anteroventral, mid-sized (OD/BL = 0.31 ± 0.04) with lateral emargination; marginal papillae arranged in a single row, conical, longer than wide, interrupted dorsally (DG/OD = 0.78 ± 0.20) and ventrally (VG/OD = 0.57 ± 0.16); submarginal papillae absent. Jaw sheaths keratinized and serrated; upper jaw sheath arch-shaped with long lateral processes and lower jaw sheath “V” shaped. Labial tooth row formula commonly 2/3, with only four individuals showing 2(2)/3. Labial tooth rows of different sizes (A1 > A2; P1 = P2 > P3). Individual labial

teeth (Fig. 1E) with oblong, curved, and convex head with 6–8 cusps, mid-sized body, and wide sheath.

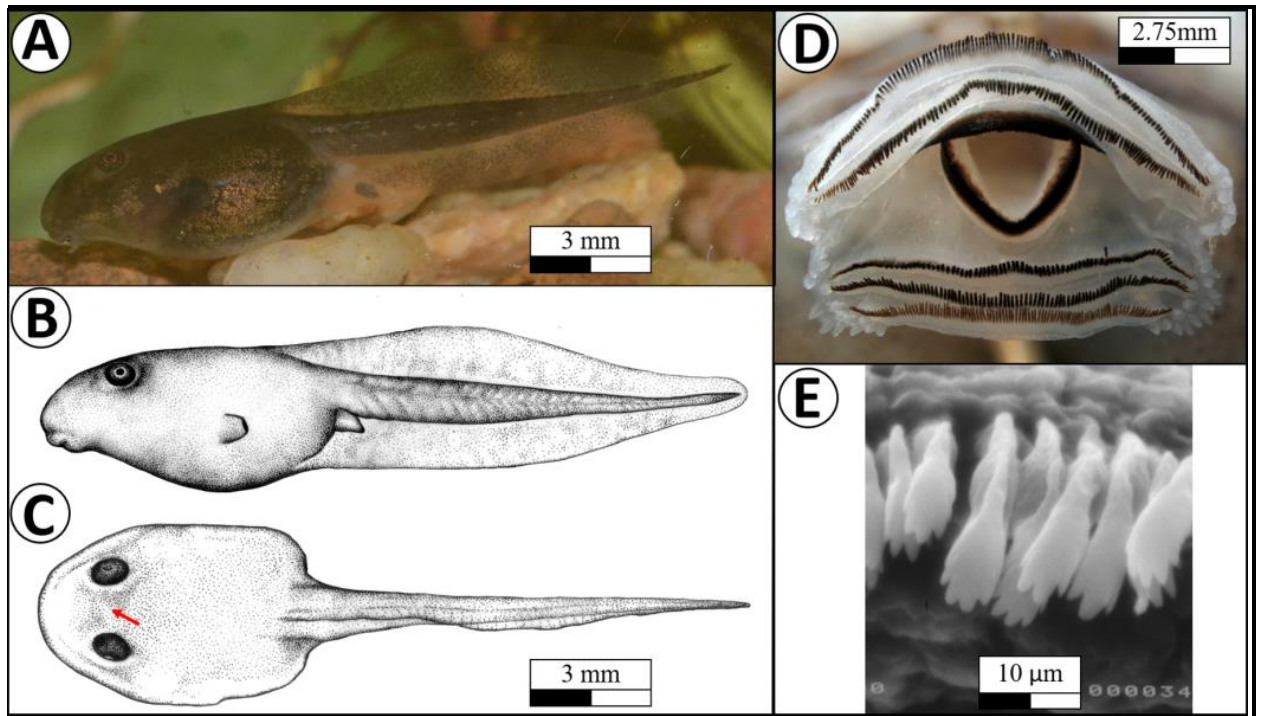


FIGURE 1. Tadpole of *Melanophryniscus dorsalis*, MCN 14349, Stage 31. (A) coloration in life, (B) lateral view, (C) dorsal view with detail of the position of pineal end-organ (arrow), (D) oral disc (ventral view), (E) labial teeth observed with scanning electron microscope.

TABLE 1. Measurements of the tadpole of *Melanophryniscus dorsalis* at Stages 29 to 39; mean values \pm standard deviations and range given in millimeters. Total length (TL), body length (BL), tail length (TAL), body maximum width (BMW), body width at nostrils level (BWN), body width at eye level (BWE), tail musculature width (TMW), body maximum height (BMH), maximum tail height (MTH), tail musculature height (TMH), rostro-spiracular distance (RSD), fronto-nasal distance (FN), extra nasal distance (EN), internarial distance (IND), nostril major axis (N), eye-nostril distance (END), eye diameter (E), interorbital distance (IOD), extraocular distance (EOD), oral disc width (OD), dorsal gap length (DG), ventral gap length (VG); dorsal fin height (DFH) and ventral fin height (VFH).

Gosner Stage	29 (n = 1)	30 (n = 4)	31 (n = 3)	33 (n = 3)	37 (n = 9)	38 (n = 5)	39 (n = 4)
TL	9.73	11.6 ± 0.92 (10.55–12.37)	12.74 ± 0.21 (12.51–12.92)	12.64 ± 0.28 (12.37–12.92)	16.46 ± 0.37 (15.84–16.95)	16.67 ± 1.07 (14.83–17.51)	16.40 ± 1.03 (14.87–17.09)
BL	3.67	4.2 ± 0.34 (4.08–4.79)	4.93 ± 0.16 (4.79–5.1)	4.82 ± 0.26 (4.59–5.1)	6.43 ± 0.19 (6.12–6.67)	6.44 ± 0.15 (6.22–6.63)	6.35 ± 0.21 (6.12–6.63)
TAL	5.71	6.9 ± 0.69 (6.01–7.65)	7.75 ± 0.10 (7.65–7.85)	7.75 ± 0.41 (7.34–8.16)	9.91 ± 0.40 (9.38–10.42)	10.73 ± 1.57 (8.36–12.44)	9.89 ± 0.93 (8.56–10.71)
BMW	2.44	2.9 ± 0.40 (2.80–3.48)	3.50 ± 0.13 (3.38–3.64)	3.64 ± 0.68 (3.22–4.42)	4.73 ± 0.27 (4.16–5.09)	4.50 ± 0.08 (4.42–4.62)	4.65 ± 0.35 (4.26–5.04)
BWN	1.12	1.9 ± 0.19 (1.66–2.07)	2.36 ± 0.11 (2.27–2.48)	2.36 ± 0.44 (2–2.85)	2.97 ± 0.26 (2.38–3.26)	2.97 ± 0.22 (2.61–3.19)	3.13 ± 0.31 (2.78–3.53)
BWE	1.97	2.6 ± 0.27 (2.38–2.99)	3.06 ± 0.11 (2.95–3.16)	3.1 ± 0.62 (2.61–3.8)	3.93 ± 0.28 (3.43–4.21)	3.72 ± 0.41 (3.12–4.08)	4.09 ± 0.28 (3.87–4.48)
TMW	0.61	0.7 ± 0.10 (0.68–0.85)	0.88 ± 0.09 (0.78–0.95)	1.01 ± 0.19 (0.85–1.22)	1.32 ± 0.11 (1.08–1.46)	1.33 ± 0.11 (1.19–1.46)	1.28 ± 0.11 (1.19–1.42)
BMH	2.13	2.5 ± 0.27 (2.34–2.65)	3.01 ± 0.11 (2.91–3.12)	3.17 ± 0.34 (2.86–3.53)	3.67 ± 0.30 (3.12–4.21)	3.43 ± 0.20 (3.27–3.77)	3.69 ± 0.50 (3.17–4.26)
MTH	2.44	2.75 ± 0.22 (2.54–3.01)	3.22 ± 0.09 (3.12–3.27)	3.1 ± 0.12 (2.96–3.17)	4.00 ± 0.21 (3.64–4.21)	3.90 ± 0.26 (3.57–4.05)	4.14 ± 0.09 (4.05–4.26)
TMH	0.78	0.86 ± 0.05 (0.83–0.93)	1.04 ± 0.06 (0.98–1.09)	1.11 ± 0.08 (1.04–1.19)	1.49 ± 0.10 (1.35–1.61)	1.50 ± 0.13 (1.4–1.66)	1.51 ± 0.16 (1.3–1.66)
RSD	2.18	2.86 ± 0.30 (2.6–3.12)	3.41 ± 0.03 (3.38–3.43)	3.51 ± 0.08 (3.43–3.58)	4.57 ± 0.18 (4.31–4.94)	4.62 ± 0.23 (4.42–4.94)	4.48 ± 0.24 (4.16–4.73)
FN	0.39	0.63 ± 0.18 (0.41–0.78)	0.74 ± 0.10 (0.62–0.8)	0.76 ± 0.24 (0.62–1.04)	1.02 ± 0.16 (0.78–1.17)	0.98 ± 0.10 (0.83–1.11)	1.05 ± 0.16 (0.83–1.17)
EN	0.65	0.77 ± 0.07 (0.7–0.83)	0.88 ± 0.03 (0.85–0.91)	0.87 ± 0.04 (0.83–0.91)	1.18 ± 0.01 (1.17–1.19)	1.23 ± 0.05 (1.17–1.3)	1.19 ± 0.08 (1.11–1.19)
IND	0.69	0.84 ± 0.07 (0.77–0.92)	0.91 ± 0.02 (0.9–0.94)	0.80 ± 0.11 (0.71–0.92)	1.12 ± 0.04 (1.07–1.17)	1.10 ± 0.05 (1.05–1.17)	1.13 ± 0.03 (1.09–1.15)
N	0.1	0.15 ± 0.02 (0.14–0.18)	0.17 ± 0.01 (0.16–0.18)	0.18 ± 0.03 (0.16–0.21)	0.22 ± 0.03 (0.16–0.25)	0.17 ± 0.04 (0.14–0.21)	0.26 ± 0.05 (0.21–0.33)
END	0.86	0.94 ± 0.13 (0.81–1.11)	1.05 ± 0.08 (0.96–1.09)	1.10 ± 0.05 (1.07–1.15)	1.25 ± 0.08 (1.19–1.44)	1.28 ± 0.09 (1.34–1.4)	1.29 ± 0.07 (1.23–1.38)
E	0.52	0.55 ± 0.05 (0.5–0.6)	0.65 ± 0.02 (0.63–0.67)	0.65 ± 0.03 (0.63–0.69)	0.83 ± 0.07 (0.75–1)	0.90 ± 0.07 (0.84–0.96)	0.87 ± 0.02 (0.84–0.88)
IOD	1.11	1.43 ± 0.16 (1.26–1.55)	1.65 ± 0.11 (1.53–1.74)	1.61 ± 0.14 (1.47–1.74)	2.22 ± 0.09 (2.1–2.35)	2.37 ± 0.19 (2.12–2.54)	2.34 ± 0.05 (2.31–2.41)
EOD	1.57	1.78 ± 0.14 (1.69–2)	2.03 ± 0.09 (1.93–2.07)	2.12 ± 0.14 (1.97–2.24)	2.85 ± 0.10 (2.65–2.95)	2.87 ± 0.07 (2.78–2.95)	2.83 ± 0.13 (2.65–2.92)

.....continued on the next page

Gosner Stage	29 (n = 1)	30 (n = 4)	31 (n = 3)	33 (n = 3)	37 (n = 9)	38 (n = 5)	39 (n = 4)
OD	1.42	1.50 ± 0.08 (1.42–1.61)	1.59 ± 0.08 (1.53–1.68)	1.65 ± 0.17 (1.47–1.8)	1.95 ± 0.18 (1.68–2.26)	1.84 ± 0.13 (1.63–1.97)	1.83 ± 0.19 (1.8–1.99)
DG	1.13	1.24 ± 0.07 (1.15–1.32)	1.30 ± 0.11 (1.17–1.38)	1.31 ± 0.05 (1.26–1.3)	1.63 ± 0.14 (1.44–1.84)	1.55 ± 0.09 (1.42–1.63)	1.48 ± 0.20 (1.3–1.72)
VG	0.84	0.83 ± 0.10 (0.69–0.9)	0.94 ± 0.13 (0.79–1.05)	0.85 ± 0.26 (0.58–1.09)	1.32 ± 0.06 (1.15–1.32)	1.20 ± 0.10 (1.07–1.28)	1.10 ± 0.18 (0.84–1.28)
DFH	0.98	1.0 ± 0.06 (0.95–1.08)	1.20 ± 0.05 (1.15–1.25)	1.12 ± 0.06 (1.05–1.15)	1.46 ± 0.09 (1.25–1.56)	1.46 ± 0.09 (1.36–1.59)	1.48 ± 0.06 (1.42–1.56)
VFH	0.74	0.86 ± 0.09 (0.74–0.95)	1.06 ± 0.05 (1.02–1.12)	1.05 ± 0.06 (0.98–1.08)	1.35 ± 0.09 (1.15–1.46)	1.32 ± 0.14 (1.22–1.53)	1.33 ± 0.08 (1.22–1.42)

In life (Fig. 1A), dorsal and lateral body and tail musculature mostly dark brown; abdominal region with shiny bronze melanophores laterally; fins transparent with fine dark brown reticulated; tail muscle with dorsal longitudinal stripes from the body-tail junction to the middle of the tail; venter dark brown with scattered golden melanophores; gular region with fine reticulate on a light background. In preserved specimens, color of the body and tail musculature is lost, becoming light and faded; fins without reticulate pattern and blood veins evident on the dorsal fin.

Tadpoles of *M. dorsalis* are similar to other congeneric species inhabiting lentic benthic habitats, with features such as globose body, fins higher than body, dorsolateral eyes, and anteroventral oral discs with smaller dorsal and ventral gaps (Haad *et al.* 2011; Baldo *et al.* 2014). Compared with other species of the *M. stelzneri* group, they are slightly smaller than those of *M. klappenbachi* (17–17.8 mm) and *M. stelzneri* (15.9–17.6 mm), and slightly larger than *M. atroluteus* (9.4–13.8 mm), *M. montevidensis* (11.1–15.8 mm), *M. paraguayensis* (13.2–14.8 mm) and *M. rubriventris* (12.6–13.5 mm). *Melanophryniscus dorsalis* tadpoles could be distinguished from *M. atroluteus*, *M. stelzneri* and *M. rubriventris* by nostrils closer to the snout than to the eyes (closer to the eye in the other species) and from *M. klappenbachi*, *M. montevidensis*, and *M. paraguayensis* by the dextral vent tube (medial in those species) (Baldo *et al.* 2010; Baldo *et al.* 2014). Besides in *M. dorsalis*, intraspecific variations in LTRF are reported in tadpoles of *M. montevidensis*, *M. stelzneri*, and *M. atroluteus* (Baldo *et al.* 2014).

Acknowledgements

We thank Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) for financial support to MDF and RAR; DL thanks Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (310859/2020-4) for research fellowships. We thank R. Ott for their valuable technical support in the photographs and SEM micrographs and C. Zank, D. Baldo, P. Colombo and R. Maneyro for their reviews of our early version of the manuscript. Also, we thank the editor and anonymous reviewer for their careful reading of our manuscript and their many insightful comments and suggestions.

References

- Baldo, D., Maneyro, R. & Laufer, G. (2010) The tadpole of *Melanophryniscus atroluteus* (Miranda Ribeiro, 1902) (Anura: Bufonidae) from Argentina and Uruguay. *Zootaxa*, 2615, 66–68. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.2615.1.4>
- Baldo, D., Vera Candioti, F., Haad, B., Kolenc, F., Borteiro, C., Pereyra, M.O., Zank, C., Colombo, P., Bornschein, M.R., Sisa, F.N., Brusquetti, F., Conte, C.E., Nogueira-Costa, P., Almeida-Santos, P. & Pie, M.R. (2014) Comparative morphology of pond, stream and phytotelm-dwelling tadpoles of the South American Redbelly Toads (Anura: Bufonidae: *Melanophryniscus*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 112, 417–441. <https://doi.org/10.1111/bij.12296>.
- Cruz, C.A.G. & Caramaschi, U. (2003) Taxonomic status of *Melanophryniscus stelzneri dorsalis* (Mertens, 1933) and *Melanophryniscus stelzneri fulvoguttatus* (Mertens, 1937) (Amphibia, Anura, Bufonidae). *Boletim do Museu Nacional, Rio de Janeiro, Nova Serie, Zoologia*, 500, 1–11.
- Frost, D.R. (2022) Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.1. American Museum of Natural History, New York, Available from: <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php> (accessed 10 February 2022).
- Gosner, K.L. (1960) A simplified table for staging anuran embryos and larvae with notes on identification. *Herpetologica*, 16, 183–190.
- Grosjean, S. (2005) The choice of external morphological characters and developmental stages for tadpole-based anuran taxonomy: a case study in *Rana (Sylvirana) nigrovittata* (Blyth, 1855) (Amphibia, Anura, Ranidae). *Contributions to Zoology*, 74, 61–76. <https://doi.org/10.1163/18759866-0740102005>
- Haddad, C.F.B., Segalla, M.V., Bataus, Y.S.L., Uhlig, V.M., Batista, F.R.Q., Garda, A., Hudson, A.A., Cruz, C.A.G., Strüsmann, C., Brasileiro, C.A., Silvano, D.L., Nomura, F., Pinto, H.B.A., Amaral, I.B., Gasparini, J.L.R., Lima, L.P., Martins, M.R.C., Hoogmoed,

- M.S., Colombo, P., Valdujo, P.H., Garcia, P.C.A., Feio, R.N., Brandão, R.A., Bastos, R.P. & Caramaschi, U. (2016) Avaliação do risco de extinção de *Melanophryniscus dorsalis* (Mertens, 1933). Processo de avaliação do risco de extinção da fauna brasileira. ICMBio. Available from: <http://www.icmbio.gov.br/portal/biodiversidade/fauna-brasileira/estado-de-conservacao/7514-anfibios-melanophryniscus-dorsalis.html> (accessed 10 February 2022)
- Haad, B., Vera Candioti, F. & Baldo, D. (2011) Shape variation in lentic and lotic tadpoles of *Melanophryniscus* (Anura: Bufonidae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment*, 46, 91–99. <https://doi.org/10.1080/01650521.2011.593124>
- IUCN (2020) The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2020-2. Available from: <https://www.iucnredlist.org> (accessed 10 February 2022)
- Lavilla, E.O. & Scrocchi, G.J. (1986) Morfometría larval de los géneros de Telmatobiinae (Anura: Leptodactylidae) de Argentina y Chile. *Physis*, 44, 39–43.
- McDiarmid, R.W. & Altig, R. (1999) *tadpoles: the Biology of Anuran Larvae*. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, 444 pp.
- Pie, M.R., Ströher, P.R., Belmonte-Lopes, R., Bornschein, M.R., Ribeiro, L.F., Faircloth, B.C. & McCormack, J.E. (2017) Phylogenetic relationships of diurnal, phytotelm-breeding *Melanophryniscus* (Anura: Bufonidae) based on mitogenomic data. *Gene*, 628, 194–199. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.07.048>
- Quintela, F.M., Medvedowisky, I.G., Neves, L.F., Loebmann, D. & Figueiredo, M.R.C. (2007) Amphibia, Anura, Bufonidae, *Melanophryniscus dorsalis*: Distribution extension in the State of Rio Grande do Sul, Brazil. *Check List*, 3, 100–103. <https://doi.org/10.15560/3.2.100>
- Zank, C., Becker, F.G., Abadie, M., Baldo, D., Maneyro, R. & Borges-Martins, M. (2014) Climate change and the distribution of neotropical—red- toads (*Melanophryniscus*, Anura, Amphibia): how to prioritize species and populations? *PLoS ONE*, 9, e94625. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094625>

CONCLUSÕES

Na presente tese, realizo um amplo estudo sobre a atualização do conhecimento das espécies de anfíbios do Rio Grande do Sul, incluindo o registro de novas espécies para o estado (*Dendropsophus elegans* e *Scinax imbegue*) e descrição de duas espécies (*Scinax* e *Physalaemus*), para a Floresta Atlântica do sul do Brasil, bem como, trato de aspectos da história natural com a descrição da morfologia larval de espécie rara e ameaçada de anuro (*Melanophryniscus dorsalis*).

No capítulo 1, realizo pela primeira vez, passados mais de 40 anos da publicação de Braun & Braun (1980), uma atualização do conhecimento da riqueza, composição e distribuição sobre as espécies de anfíbios do Rio Grande do Sul. Também de forma inédita, verificamos os padrões de distribuição das espécies em relação aos distintos biomas Mata Atlântica e Pampa conjuntamente no estado, além de fitofisionomias da Floresta Atlântica associadas e ainda, contribuímos indicando aquelas espécies não avaliadas quanto ao seu status de conservação no âmbito regional, nacional e mundial. Constatamos que diversas espécies possuem ocorrência potencial no estado e que áreas com carência de amostragens de anfíbios no Rio Grande do Sul devem ser amostradas e potencialmente podem revelar novos registros e espécies ainda não descritas.

No capítulo 2, realizamos uma ampla revisão bibliográfica, relacionada a consulta em banco de dados de coleções do estado, a especialistas e curadores de coleções científicas nacionais e estrangeiras, visando buscar informações e atualização do status de ocorrência geográfica para algumas espécies e anfíbios. Oito espécies foram elencadas e supostamente ocorreram no estado e são consideradas de ocorrência duvidosa, e que devido a registros de ocorrência em estudos pretéritos, porém mal documentados, devem ser propostas para serem retiradas da lista do estado do Rio Grande do Sul. Essa medida atua diretamente sanando Lacunas de conhecimento taxonômicas sobre as espécies e propõe resolver aspectos indiretamente relacionados a questões como “Taxonomic inflation”.

No capítulo 3, registramos duas novas ocorrências de espécies de anuros da Família Hylidae para áreas da Floresta Atlântica no nordeste do estado do Rio Grande do Sul, sendo elas, as pererecas *Dendropsophus elegans* e *Scinax imbegue*. Para a *D. elegans*, confeccionamos um mapa de distribuição atualizado de todos os registros de ocorrências

conhecidos da espécie no Brasil e a para *S. imbegue*, gravamos, analisamos e comparamos as características acústicas do canto de, em relação a estudos prévios, permitindo a correta identidade do táxon. Essas duas espécies são típicos casos de espécies associadas a Floresta Atlântica do sudeste e sul do Brasil, no caso de *S. imbegue* e desde a região nordeste até a região sul do Brasil, no caso de *D. elegans*, distribuídas pela faixa costeira Atlântica principalmente, e que apresentam os seus limites sul de distribuição no estado. Além disso, indicam que áreas bem amostradas, como a região nordeste do estado, apesar de amplamente fragmentadas, ainda podem revelar espécies novas para os limites do Rio Grande do Sul.

No capítulo 4, registramos e descrevemos espécimes de um táxon na Mata Atlântica do sul do Brasil que não conseguimos atribuir a nenhuma espécie nominal atualmente no gênero *Physalaemus*. Neste estudo, nomeamos e descrevemos este táxon como uma nova espécie do grupo *P. henselii* com base no estudo da morfologia de adultos e girinos, canto de anúncio, sequências de DNA e uso de habitat. Esta espécie apresenta características únicas dentro do grupo *henselii*, pois é a primeira espécie do grupo exclusiva de áreas da Floresta Atlântica, além de ocupar ambiente florestal, diferentemente das espécies de seu grupo morfológico (*P. fernandezae* e *P. henselii*), conhecidas preferencialmente em áreas abertas do bioma Pampa e áreas associadas na Argentina e Uruguai. Ainda, neste grupo, o canto de anúncio é um caráter autapomórfico entre as três espécies, apresentando cantos de distintos.

No capítulo 5, descrevemos uma nova espécie de anuro do gênero *Scinax* do clado *ruber*, relacionada a espécie *Scinax granulatus* da Mata Atlântica do estado do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, sul do Brasil. Esta espécie estava incluída dentro do complexo de *S. granulatus* que só foi delimitado recentemente, indicando uma espécie candidata (*S. granulatus* linhagem D), que é descrita aqui com base na aplicação de taxonomia integrativa na morfologia e morfometria de adultos e girinos, e análise bioacústica. Realizamos ampla comparação entre a nova espécie e demais espécies descritas dentro do clado *ruber*. As espécies de *Scinax* do clado *ruber* representam 130 espécies atualmente, que ainda estão carentes de uma análise filogenética abrangente, incluindo dados morfológicos e genéticos, bem como linhas de evidência adicionais, como morfologia interna de girinos e bioacústica, dentre outros caracteres importantes para elucidação das relações entre as espécies do gênero.

No capítulo 6, descrevemos a morfologia externa do girino de *Melanophryniscus dorsalis*, espécie ameaçada, conhecida como de sapo-de-barriga-vermelha, da família Bufonidae e comparamos com a literatura atualmente disponível de descrições de girinos do gênero. Este trabalho permite a identificação desta espécie de hábito secreto em atividades de campo e pode ser importante ferramenta de conservação, em diagnósticos que visem o reconhecimento de áreas com a presença desta espécie ameaçada e associada, principalmente, a zona costeira dos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, Sul do Brasil.

Documentos complementares

Cadastro SISGEN



**Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO**

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Atestado de Regularidade de Acesso

Cadastro nº AFA6186

O Conselho de Gestão do Patrimônio Genético, no exercício da competência conferida pelo inciso IV do § 1º do art. 6º da Lei nº 13.123/2015, atesta que o acesso ao Patrimônio Genético, referente ao cadastro abaixo identificado e resumido, cumpriu os requisitos da Lei nº 13.123/2015 e seus regulamentos até a data de emissão deste atestado.

Número do cadastro: **AFA6186**
Usuário: **Marcelo Duarte Freire**
CPF/CNPJ: **577.770.630-49**
Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**
Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

Espécie

Scinax granulatus

Scinax sp

Scinax sp

Scinax sp

Scinax sp

Physalaemus sp

Physalaemus sp

Physalaemus sp

Physalaemus sp

Physalaemus sp

Physalaemus sp

Physalaemus sp

Melanophryniscus dorsalis

Título da Atividade: **ANFÍBIOS DO RIO GRANDE DO SUL: ATUALIZAÇÃO DO CONHECIMENTO E LACUNA DE CONHECIMENTO LINEANA, TAXONOMIA E ASPECTOS DA HISTÓRIA NATURAL**

Equipe

Marcelo Duarte Freire

INDEPENDENTE

Data do Cadastro: **23/07/2023 19:14:03**

Situação do Cadastro: **Concluído**

Cadastro CEUA

Sistema Pesquisa - Pesquisador: Laura Verrestro Vines

Projeto Nº:	22977	Título:	HISTÓRIA NATURAL E CONSERVAÇÃO DAS ESPÉCIES DE SQAMATA E ANURA DE DISTRIBUIÇÃO RESTRIITA OU APLICADAS DO BIOMA PAMPA		
Área de conhecimento:	Zoologia	Início:	02/08/2012	Previsão de conclusão:	31/12/2024
Situação:	Projeto em Andamento				
Origem:	Instituto de Biociências Departamento de Zoologia		Projeto de linha de pesquisa: Ecologia de Lagartos		
Local de Realização:	não informado				
Não apresenta relação com Patrimônio Genético ou Conhecimento Tradicional Associado.					
Objetivo:					
Os estudos abrangem a determinação de parâmetros tais como: dieta e estratégia alimentar, ciclo e estratégia reprodutiva, dimorfismo sexual, biologia terrenal, utilização do habitat, distribuição espacial, ritmo de atividade, dinâmica populacional, crescimento, área de vida dos indivíduos, assim como os aspectos comportamentais e a filogeografia da espécie. A medida que os estudos preliminares forem concluídos, os resultados nos oferecerão ferramentas para avaliar os efeitos da fragmentação e degradação do habitat sobre a estrutura populacional, parâmetros biológicos e ecológicos das espécies analisadas. Dessa forma, será possível a geração de dados para a elaboração de planos de manejo e preservação das espécies e do Bioma Pampa.					
Palavras Chave:					
ECOLOGIA DE LAGARTOS FILGEOGRAFIA HISTÓRIA NATURAL DE RÉPTEIS MODELAGEM DE NICHO					

Comissão de Ética no Uso de Animais - Aprovado em 06/11/2012 [Clique aqui para visualizar o parecer](#)

Carta de aprovação disponível desde 28/11/2012

Comissão de Pesquisa do Instituto de Biociências - Aprovado em 26/04/2012 [Clique aqui para visualizar o parecer](#)

PARECER COMISSÃO DE PESQUISA

Projeto relevante que permitirá a ampliação do conhecimento de um importante grupo de fauna de vertebrados no Bioma Pampa. O Laboratório de Herpetologia conta com as condições de infraestrutura para a realização da pesquisa. A equipe é plenamente capacitada no desenvolvimento do trabalho, e a coordenadora apresenta licença permanente de coleta emitida pelo ICMB. A metodologia é adequada e o cronograma está bem dimensionado. Envolver coleta de amostras de tecido e sacrifício de vertebrados, deve ser encaminhado ao CEUA.

PARECER CEUA

Todos os itens solicitados foram atendidos, portanto o projeto está aprovado.

CEUA/UFRGS

Objetivo:

Os estudos abrangem a determinação de parâmetros tais como: dieta e estratégia alimentar, ciclo e estratégia reprodutiva, dimorfismo sexual, biologia terrenal, utilização do habitat, distribuição espacial, ritmo de atividade, dinâmica populacional, crescimento, área de vida dos indivíduos, assim como os aspectos comportamentais e a filogeografia da espécie. A medida que os estudos preliminares forem concluídos, os resultados nos oferecerão ferramentas para avaliar os efeitos da fragmentação e degradação do habitat sobre a estrutura populacional, parâmetros biológicos e ecológicos das espécies analisadas. Dessa forma, será possível a geração de dados para a elaboração de planos de manejo e preservação das espécies e do Bioma Pampa.

Licenças de coleta



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Registro de Expedição Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 9791-1	Data da emissão: 13/07/2018 11:19
Número da solicitação: 47368	Data da expedição: 14/07/2018 à 14/07/2019

Dados do titular

Nº de Registro: 628698	Nome: Patrick Colombo	CPF: 927.385.590-34
Instituição : FUNDAÇÃO ZOOBOTÂNICA DO RIO GRANDE DO SUL	CNPJ: 87.912.929/0001-75	

Equipe

#	Nome	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade	*Responsável
1	Marcelo Duarte freire	577.770.630-49	9033645756 SSP-RS	Brasileira	Sim

* O titular será o responsável pela equipe caso não designe alguém para exercer tal função.

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Localidade	UF	Município
1	Rio Grande do Sul	RS	
2	Rio Grande do Sul	RS	

Táxons autorizados

Táxon(s)
Anfíbios Ranidae, Cycloramphidae, Caeciliidae, Macrogenioglottus, Ceratophryidae, Leiuperidae, Pipidae, Odontophrynus, Rhinatrematidae, Hylidae, Dendrobatidae, Hemiphractidae, Eleutherodactylidae, Craugastoridae, Anura, Proceratophrys, Microhylidae, Siphonopidae, Typhlonectidae, Allophrynidae, Limnomedusa, Gymnophiona, Hylodidae, Centrolenidae, Plethodontidae, Caudata, Bufonidae, Leptodactylidae, Aromobatidae

Este documento foi expedido pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO de acordo com a Instrução Normativa ICMBio número 03/2014. Qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do ICMBio/Sisbio na internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 79511564



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Registro de Expedição
Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 9791-1	Data da emissão: 13/07/2018 11:19
Número da solicitação: 47368	Data da expedição: 14/07/2018 à 14/07/2019

Dados do titular

Nº de Registro: 628698	Nome: Patrick Colombo	CPF: 927.385.590-34
Instituição : FUNDAÇÃO ZOOBOTÂNICA DO RIO GRANDE DO SUL		CNPJ: 87.912.929/0001-75

Anexo para registrar Coletas Imprevistas de Material Biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº 03/2014

Art. 19. A coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta.

§ 1º O transporte do material biológico ou do substrato a que se refere o caput deste artigo deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação.

§ 2º A coleta a que se refere o caput deste artigo deverá ser comunicada no relatório de atividades.

§ 3º O material biológico coletado conforme previsto no caput deverá ser destinado à instituição científica, preferencialmente depositado em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO)

Táxon*	Qtde.	Tipo de amostra	Qtde.	Data

Este documento foi expedido pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO de acordo com a Instrução Normativa ICMBio número 03/2014. Qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do ICMBio/Sisbio na internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 79511564



Página 2/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Registro de Expedição
Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 9791-1	Data da emissão: 13/07/2018 11:19	
Número da solicitação: 47368	Data da expedição: 14/07/2018 à 14/07/2019	
Dados do titular		
Nº de Registro: 628698	Nome: Patrick Colombo	CPF: 927.385.590-34
Instituição : FUNDAÇÃO ZOOBOTÂNICA DO RIO GRANDE DO SUL		CNPJ: 87.912.929/0001-75

* Identificar o espécime no nível taxonômico mais específico possível.



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Registro de Expedição Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 9792-1	Data da emissão: 13/07/2018 11:22
Número da solicitação: 47368	Data da expedição: 14/07/2018 à 14/07/2019

Dados do titular

Nº de Registro: 628698	Nome: Patrick Colombo	CPF: 927.385.590-34
Instituição : FUNDAÇÃO ZOOBOTÂNICA DO RIO GRANDE DO SUL		CNPJ: 87.912.929/0001-75

Equipe

#	Nome	CPF	Doc. Identidade	Nacionalidade	*Responsável
1	Marcelo Duarte freire	577.770.630-49	9033645756 SSP-RS	Brasileira	Sim

* O titular será o responsável pela equipe caso não designe alguém para exercer tal função.

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Localidade	UF	Município
1	Santa Catarina	SC	

Táxons autorizados

Táxon(s)	
Anfíbios	Ranidae, Cycloramphidae, Caeciliidae, Macrogenolotus, Ceratophryidae, Leluperidae, Pipidae, Odontophrynus, Rhinatrematidae, Hylidae, Dendrobatidae, Hemphractidae, Eleutherodactylidae, Craugastoridae, Anura, Proceratophrys, Microhylidae, Sliphonopidae, Typhlonectidae, Allophrynidae, Limnomedusa, Gymnophiona, Hylodidae, Centrolenidae, Plethodontidae, Caudata, Bufonidae, Leptodactylidae, Aromobatidae

Este documento foi expedido pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO de acordo com a Instrução Normativa ICMBio número 03/2014. Qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do ICMBio/Sisbio na internet (www.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 92833115



Página 1/3



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Registro de Expedição
Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 9792-1	Data da emissão: 13/07/2018 11:22	
Número da solicitação: 47368	Data da expedição: 14/07/2018 à 14/07/2019	
Dados do titular		
Nº de Registro: 628898	Nome: Patrick Colombo	CPF: 927.385.590-34
Instituição : FUNDAÇÃO ZOOBOTÂNICA DO RIO GRANDE DO SUL		CNPJ: 87.912.929/0001-75

* Identificar o espécime no nível taxonômico mais específico possível.



Registro de Expedição

Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 72787	Data da emissão: 11/09/2019 13:41:09
Número da solicitação: 47368	Data da expedição: 12/09/2019 à 25/09/2019

Dados do titular

Nº de Registro: 268043	Nome: Patrick Colombo	CPF: 927.385.590-34
------------------------	-----------------------	---------------------

Equipe

#	Nome	CPF	Doc. Identificação	Tipo Doc.	Nacionalidade	*Resp.
1	Marcelo Duarte freire	577.770.630-49	2632240 SSP-DF	Identidade	Brasileiro	Sim

* O titular será o responsável pela equipe caso não designe alguém para exercer tal função.

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Localidade	UF	Município	Bioma	Caverna
1	Todas do município	RS	Chul	Pampa	-
2	Todas do município	RS	Rio Grande	Pampa	-
3	Todas do município	RS	São José do Norte	Pampa	-
4	Todas do município	RS	Mostardas	Pampa	-
5	Todas do município	RS	Osório	Mata Atlântica	-
6	Todas do município	RS	Maquiné	Mata Atlântica	-
7	Todas do município	RS	Terra de Areia	Mata Atlântica	-
8	Todas do município	RS	Três Cachoeiras	Mata Atlântica	-
9	Todas do município	RS	Três Forquilhas	Mata Atlântica	-
10	Todas do município	RS	Dom Pedro de Alcântara	Mata Atlântica	-
11	Todas do município	RS	Torres	Mata Atlântica	-
12	Todas do município	SC	Passo de Torres	Mata Atlântica	-
13	Todas do município	SC	Balneário Arroio do Silva	Mata Atlântica	-
14	Todas do município	SC	Sombrio	Mata Atlântica	-
15	Todas as localidades	RS	Arroio do Sal	Mata Atlântica	-
16	Todas do município	RS	Santa Vitória do Palmar	Pampa	-

Este documento foi expedido pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO de acordo com a Instrução Normativa Ibama número 154/07. Qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/SISBIO na internet (www.sisbio.sisicmbio.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 411795



Página 1/2



Ministério do Meio Ambiente - MMA
Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade - ICMBio
Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO

Registro de Expedição
Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 73148	Data da emissão: 25/09/2020 14:46:20
Número da solicitação: 47368	Data da expedição: 26/09/2020 à 28/09/2020

Dados do titular

Nº de Registro: 268043	Nome: Patrick Colombo	CPF: 927.385.590-34
------------------------	-----------------------	---------------------

Equipe

#	Nome	CPF	Doc. Identificação	Tipo Doc.	Nacionalidade	*Resp.
1	Marcelo Duarte freire	577.770.630-49	2632240 SSP-DF	Identidade	Brasileiro	Sim

* O titular será o responsável pela equipe caso não designe alguém para exercer tal função.

Locais onde as atividades de campo serão executadas

#	Localidade	UF	Município	Bioma	Caverna
1	Todas as localidades	RS	Capão da Canoa	Mata Atlântica	-
2	Todas as localidades	RS	Osório	Mata Atlântica	-

Este documento foi expedido pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO de acordo com a Instrução Normativa Ibama número 154/07. Qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na internet (www.sisbio.sisicmbio.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 724553044743095



Página 1/2



Registro de Expedição

Licença permanente para coleta de material zoológico

Número: 73148	Data da emissão: 25/09/2020 14:46:20
Número da solicitação: 47368	Data da expedição: 26/09/2020 à 28/09/2020

Dados do titular

Nº de Registro: 268043	Nome: Patrick Colombo	CPF: 927.385.590-34
------------------------	-----------------------	---------------------

Anexo para registrar Coletas Imprevistas de Material Biológico

De acordo com a Instrução Normativa nº154/2007

Art. 19. A coleta imprevista de material biológico ou de substrato não contemplado na autorização ou na licença permanente deverá ser anotada na mesma, em campo específico, por ocasião da coleta.

§ 1º O transporte do material biológico ou do substrato a que se refere o caput deste artigo deverá ser acompanhado da autorização ou da licença permanente com a devida anotação.

§ 2º A coleta a que se refere o caput deste artigo deverá ser comunicada no relatório de atividades.

§ 3º O material biológico coletado conforme previsto no caput deverá ser destinado à instituição científica, preferencialmente depositado em coleção biológica científica registrada no Cadastro Nacional de Coleções Biológicas (CCBIO)

Táxon*	Qtde.	Tipo de Amostra	Qtde.	Data

Este documento foi expedido pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade - SISBIO de acordo com a Instrução Normativa Ibama número 154/07. Qualquer cidadão poderá verificar a autenticidade ou regularidade deste documento, por meio da página do Ibama/Sisbio na internet (www.sisbio.sisicmbio.icmbio.gov.br/sisbio).

Código de autenticação: 724553044743095



Página 2/2