

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

REVISÃO TAXONÔMICA DO SAPO-DE-CHIFRE *PROCERATOPHRYS BOIEI* (WIED-NEUWIED, 1824) (LISSAMPHIBIA, ANURA, ODONTOPHRYNIDAE)

Leonardo Castro dos Santos

Dissertação apresentada à Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito à obtenção do título de Mestre em Biologia Animal.
Área de concentração: Zoologia.

Orientadora: Sarah Mângia Barros

Campo Grande, MS

Junho, 2023

LEONARDO CASTRO DOS SANTOS

REVISÃO TAXONÔMICA DO SAPO-DE-CHIFRE *Proceratophrys boiei* (Wied-Neuwied, 1824)
(Lissamphibia, Anura, Odontophrynidae)

Dissertação de Mestrado apresentado como um dos requisitos para o cumprimento das exigências para obtenção do título de Mestre em Biologia Animal pela Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

SUMÁRIO

1. BANCA EXAMINADORA.....	4
2. DEDICATÓRIA	5
3. AGRADECIMENTOS	6
4. EPÍGRAFE	8
5. RESUMO	9
6. INTRODUÇÃO	9
7. MATERIAL E MÉTODOS	13
7.1 Morfologia externa	13
7.2 Morfometria	13
7.3 Osteologia.....	14
7.4 Análise bioacústica.....	14
8. RESULTADOS.....	15
8.1 Morfologia externa	15
8.2 Morfometria	19
8.3 Osteologia.....	22
8.4 Análise bioacústica.....	25
9. IMPLICAÇÕES TAXONÔMICAS	25
10. <i>Proceratophrys boiei</i> (Wied-Neuwied, 1824) - REDESCRIÇÃO	28
11. <i>Proceratophrys fryi</i> (Günther, 1873) - REVALIDAÇÃO.....	33
12. <i>Proceratophrys intermedia</i> (Barbour, 1908) - REVALIDAÇÃO	37
13. AGRADECIMENTOS	42
14. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
15. APÊNDICE I – ESPÉCIMES EXAMINADOS	50
16. APÊNDICE II – GRAVAÇÕES DO CANTO DE ANÚNCIO	51
17. APÊNDICE III – PROTOCOLO ADAPTADO DE TAYLOR & VAN DYKE (1985)	51

Banca Examinadora: Ana Carolina Calijorne, Carla da Silva Guimarães e Nelson Rufino de Albuquerque. Suplentes: Maria Clara e Ricardo Marques da Silva.

Sarah Mângia Barros

UFMS

Ana Carolina Calijorne Lourenço

UEMG

Nelson Rufino de Albuquerque

UFMS

Carla da Silva Guimarães

UFMS

Data: ____/____/____

Este trabalho é dedicado à todos que contribuíram para o conhecimento de *Proceratophrys* e serviram de ferramenta no avanço da ciência no país.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, a Deus, que esteve comigo me dando energia, ânimo e forças para realizar esse trabalho, além de colocar pessoas fantásticas nessa jornada.

Aos meus pais, José e Irlei, que proporcionaram todos os recursos necessários para minha estadia em Campo Grande e realização do mestrado.

A minha noiva, Francine, e meus amigos que me motivaram, apoiaram, escutaram e sempre estiveram comigo durante essa jornada.

A todos os professores e amigos da UCDB, em especial, as professoras Suelen Regina Patriarcha-Gracioli e Maria Aparecida de Souza Perrelli, que alimentaram esse sonho e deram ferramentas para se tornar possível.

A minha orientadora, Sarah Mângia, por todo o auxílio na elaboração, desenvolvimento e finalização do projeto e pela humanidade e compreensão das dificuldades encontradas durante a orientação e ajuda para superá-las.

Ao Diego Santana, que me recepcionou e acolheu no Laboratório de Biogeografia e História Natural de Anfíbios e Répteis – Mapinguari da UFMS.

Aos amigos Hugo Cabral e Juan F. Cuestas Carrillo, que deram grande ajuda na confecção do mapa e nas análises estatísticas.

As amigas Carla Guimarães e Priscila Carvalho, que sempre foram atenciosas e solícitas em todo o meu mestrado, e ainda, fizeram um intensivo comigo durante uma semana, no período de qualificação, que tiraram dúvidas, ajudaram na organização dos slides e me deram muito suporte mental e, principalmente, emocional.

As amigas Thalita Moraes e Mônica Moreira de Oliveira, que conheci durante o mestrado e que renderam boas conversas e risadas entre uma pausa e outra para o café.

A grande família que é o Laboratório Mapinguari, que sempre ofereceram todo suporte, tanto para realização física do mestrado, quanto à questões emocionais e psicológicas.

Aos curadores das coleções (R. Feio - MZUFV, J. Romanzini – MCP-PUCRS, L. Piatti, F.S. Neto e T.R. Sinani - ZUFMS, L.F. Toledo – ZUEC-AMP, UNICAMP e I. A. Martins – CCLZU-UNITAU).

Aos pesquisadores que forneceram gravações ao banco de dados da Fonoteca Neotropical Jacques Vielliardi – UNICAMP, FONOTROPICA e aos pesquisadores que gentilmente forneceram gravações pessoais para complementação dos dados acústicos, J.V. Lacerda, L. Ugioni, L. Drummond e T. Pezzuti.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – campus Campo Grande, MS.

A bolsa de estudo proporcionada pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Ao The Museum of Comparative Zoology at the Harvard University e Natural History Museum – London, que permitiram acesso às fotos dos exemplares-tipo de *Proceratophrys fryi* e *Proceratophrys intermedia*.

A banca do relatório parcial Ricardo Marques e Maria Clara Nascimento e a banca da qualificação Ricardo Marques, Carla Cassini e Nelson Rufino pelas excelentes contribuições no projeto até chegar nesse formato final.

A banca da defesa de dissertação Ana Carolina Calijorne, Carla da Silva Guimarães e Nelson Rufino de Albuquerque pela disponibilidade na avaliação do projeto e posteriores contribuições a fim de deixar o artigo em excelentes condições de escrita e entendimento, contribuindo na ciência nacional.

E por fim, agradeço à todas as pessoas que direta ou indiretamente fizeram parte dessa etapa importante da minha vida.

“Um conceito coerente em biologia ou ciências quando bem exposto, pode se tornar um trabalho marcante que será lembrado mais que o tempo normal. Ser curioso faz com que a motivação em aprender apareça naturalmente, divirta-se!”

- Maura Watan

Revisão taxonômica do sapo-de-chifre *Proceratophrys boiei* (Wied-Neuwied, 1824) (Lissamphibia, Anura, Odontophrynidae)

RESUMO: *Proceratophrys boiei*, uma espécie de sapo-de-chifre, vive camuflada no meio do folhigo e ocupa ambientes de Mata Atlântica e algumas áreas de transição com o Cerrado, com distribuição nos estados do Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná e Santa Catarina. Estudos anteriores, com base em análises moleculares e citogenéticas, encontraram três linhagens distintas (Norte 1, Norte 2 e Sul), alocadas sob o táxon de *Proceratophrys boiei*. No intuito de verificar a existência de outras espécies sob o nome *P. boiei*, realizamos uma revisão taxonômica das populações ao longo de toda a distribuição da espécie, avaliando caracteres morfológicos, morfométricos, acústicos, e osteológicos de 197 indivíduos (145 machos e 52 fêmeas), provenientes de 68 localidades. Conduzimos as análises seguindo as três linhagens encontradas em um estudo prévio (N1, N2 e S). Os caracteres de morfologia externa e os parâmetros do canto de anúncio das três linhagens apresentam variação e sobreposição, inclusive entre indivíduos da mesma linhagem, indicando alto grau de polimorfismo. Contudo, com relação à morfometria, os exemplares do S apresentaram a menor média do CRC (46,0 nos machos e 51,6 nas fêmeas) e na análise osteológica, observamos que a linhagem N1 apresenta a região do esfenetmóide coberta pelo nasal, enquanto N2 e S os nasais não cobrem essa região. Além disso, para a linhagem N2, a espessura do ramo zigomático do escamosal é 2,06 vezes maior em relação ao ramo subocular, enquanto nas linhagens N1 e S, a espessura é de 1,43 e 1,7 vezes maior, respectivamente. A partir dos nossos resultados, aliados às diferenças encontradas entre as três linhagens em estudos prévios (com base nos genes 16S, cit *b*, RAG-1, na citogenética e no condrocânio de girinos), nós revalidamos duas espécies que estavam sinonimizadas com *P. boiei*, e redescrevemos *P. boiei*, indicando novos caracteres diagnósticos e sua atual distribuição geográfica.

INTRODUÇÃO

A taxonomia é utilizada para delinear, descrever e identificar espécies e utiliza a morfologia como principal critério para distinção entre os indivíduos (Padial et al., 2009). Espécies que possuem ampla distribuição geográfica podem apresentar questões taxonômicas, devido principalmente ao polimorfismo, uma vez que a morfologia pode ser influenciada pela localidade e a fisionomia do ambiente (Gomes & Peixoto, 1991; Orrico et al., 2017; Correa, 2019). Atualmente, descrições de novas espécies são baseadas em caracteres morfológicos, porém estão associadas a outros métodos que favoreçam a identificação do indivíduo, como análises acústicas e moleculares (Padial et al., 2009; Santos, 2011; Da Silva et al., 2020). Recentemente, vários trabalhos ressaltaram a importância do uso de diversas fontes de dados e evidências para avaliar o status taxonômico de uma espécie (e.g. Dayrat, 2005; Schlick-Steiner et al., 2010; Köhler et al., 2015). De fato, o uso de

uma combinação de dados dá maior robustez nas decisões taxonômicas e descrições e/ou sinonimizadas de espécies (e.g. Mângia et al., 2020). A utilização de diversas abordagens para obtenção de dados que evidenciem, classifiquem e identifiquem espécies é conhecida como taxonomia integrativa (Padial et al., 2009; Glaw et al., 2010). Com o crescente uso dessa ferramenta, diversos trabalhos sobre descrição de novas espécies (Gehara et al., 2013; Mângia et al., 2018; Taucce et al. 2020), revalidações (Cassini et al., 2010; Ortega-Andrade & Rojas-Soto, 2017; Magalhães et al., 2020) e sinonimizadas (Júnior et al., 2004; Ortega-Andrade, 2008; Mângia et al., 2020) são publicados para vários grupos de anfíbios.

Para o gênero *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro, 1920, pertencente à família Odontophrynidae, e atualmente composto por 43 espécies (Frost, 2023), foram realizados diversos estudos que contribuíram para a taxonomia das espécies do gênero, com o uso de diferentes bases de dados, como morfologia, molecular, cariótipo e bioacústica (Godinho et al., 2013; Magalhães et al., 2020; Mângia et al., 2014; Mângia et al., 2020; Santana et al., 2021). As espécies de *Proceratophrys* estão organizadas em grupos fenéticos e complexos de espécies com base em similaridades gerais de caracteres morfológicos (Dias et al., 2013; Brandão et al., 2013; Mângia et al., 2014), a saber: 1) o complexo *P. boiei* (Prado & Pombal-Jr., 2008) inclui espécies com apêndices palpebrais: *P. boiei* (Wied-Neuwied, 1824), *P. paviotti* Cruz, Prado & Izecksohn, 2005 e *P. renalis* (Miranda-Ribeiro, 1920); 2) o complexo *P. appendiculata* (Izecksohn et al., 1998) inclui espécies com apêndices palpebrais e apêndice rostral: *P. appendiculata* (Günther, 1873), *P. melanopogon* (Miranda-Ribeiro, 1926), *P. mantiqueira* Mângia et al., 2014, *P. gladius* Mângia et al., 2014, *P. pombali* Mângia et al., 2014, *P. itamari* Mângia et al., 2014, *P. laticeps* Izecksohn & Peixoto, 1981, *P. moehringi* Weygoldt & Peixoto, 1985, *P. subguttata* Izecksohn et al., 1998, *P. sanctaritae* Cruz & Napoli, 2010, *P. tupinamba* Prado & Pombal, 2008, *P. izecksohni* Dias et al., 2013, *P. belzebul* Dias et al., 2013, e *P. phyllostomus* Izecksohn et al., 1998; 3) o grupo *P. cristiceps* (Giaretta et al., 2000) inclui espécies que não possuem elevações pós-oculares: *P. cristiceps* (Müller, 1883), *P. goyana* (Miranda-Ribeiro, 1937), *P. dibernardo* Brandão et al., 2013, *P. branti* Brandão et al., 2013, *P. bagnoi* Brandão et al., 2013, *P. cururu* Eterovick & Sazima, 1998, *P. huntingtoni* Ávila et al., 2012, *P. moratoi* (Jim & Caramaschi, 1980), *P. salvatori* (Caramaschi, 1996), *P. strussmannae* Ávila et al., 2011, *P. vielliardi* Martins & Giaretta, 2011, *P. carranca* Godinho et al., 2013, *P. rotundipalpebra* Martins & Giaretta, 2013, *P. concavitympanum* Giaretta et al., 2000, *P. ararype* Mângia et al., 2018, *P. korekore* Santana et al., 2021 e *P. velhochico* Mângia et al., 2022; e 4) o grupo *P. bigibbosa* (Kwet & Faivovich, 2001) inclui espécies com elevações pós-oculares: *P. bigibbosa* (Peters, 1872), *P. avelinoi* Mercadal de Barrio & Barrio, 1993, *P. palustris* Giaretta & Sazima, 1993, *P. brauni* Kwet & Faivovich, 2001, *P. kaingang* Santana et al., 2021. As espécies *P. minuta* Napoli et al., 2011, *P. redacta* Teixeira-Jr. et al., 2012, *P. rondonae* Prado & Pombal, 2008 e *P. schirchi* (Miranda-Ribeiro, 1937) não estão inseridas em nenhum grupo morfológico (Prado & Pombal-Jr., 2008; Napoli et al., 2011; Teixeira-Jr., et al., 2012).

Proceratophrys boiei Wied-Neuwied (1824) foi descrita como *Ceratophrys boiei* e, em 1825, este mesmo autor redescreveu a espécie com base em dois exemplares: um da Bahia e outro do Rio de Janeiro. No entanto, não existem informações sobre o coletor dos exemplares e a localidade-tipo da espécie na descrição original. Em 1966, Bokermann restringiu a localidade-tipo para o estado da Guanabara (Rio de Janeiro). Após análises morfológicas, Lynch (1971) alocou *Ceratophrys boiei* no gênero *Proceratophrys* e, em 1990, Hoogmoed designou um indivíduo (RMNH 24109) de *Proceratophrys boiei* como lectótipo da espécie, e restringiu a localidade-tipo para Bahia, mas ainda sem informação sobre os dados de coleta e exemplar-tipo. Posteriormente, Prado & Pombal-Jr. (2008), compararam populações de *Proceratophrys boiei* do nordeste e sul/sudeste (Figura 1), com o lectótipo designado por Hoogmoed (1990) e observaram evidências claras de que o lectótipo RMNH 24109 pertencia à população sul/sudeste, restringindo, assim, o estado do Rio de Janeiro como localidade-tipo de *Proceratophrys boiei*. Os autores também mapearam a distribuição geográfica da espécie, que é relatada para regiões de Mata Atlântica, abrangendo o estado de Santa Catarina até o Espírito Santo, com ocorrência em algumas áreas de transição, com o Cerrado nos estados de São Paulo e Minas Gerais. Além disso, neste mesmo trabalho, os autores revalidaram *P. renalis*, o que inclui as populações ao norte de Minas e nordeste do Brasil. Ainda sobre o histórico taxonômico, *Proceratophrys boiei* possui, atualmente, três sinônimos júnior: (1) *Ceratophrys granosa* Cuvier, 1829, foi figurada por Guérin-Méneville (1838) sem associação local, levantando a necessidade de uma busca histórica sobre o status dessa referência usada por Cuvier para a descrição; (2) *Ceratophrys fryi* Günther, 1873, descrito para a "Serra da Mantiqueira" em Minas Gerais, sinonimizada por Prado e Pombal (2008); e (3) *Ceratophrys intermedia* Barbour, 1908, descrita para "Santa Katarina, Brazil", mas posteriormente sinonimizada por Bokermann em 1966.

Em 2005, Izecksohn e colaboradores realizaram um estudo sobre o osteocrânio de *Proceratophrys boiei*, *P. appendiculata*, *P. melanopogon* (estado do Rio de Janeiro) e *P. laticeps* (estado do Espírito Santo). No entanto, o foco deste trabalho foi apenas comparar as espécies estudadas. Três anos depois, uma revisão das espécies de *Proceratophrys* com apêndices palpebrais, incluindo *Proceratophrys boiei*, foi realizada por Prado & Pombal Jr. (2008) com base na morfologia externa e em caracteres da osteologia. Os autores encontraram variações sutis em algumas populações de *Proceratophrys boiei* dos estados do Paraná e Santa Catarina com relação aos demais exemplares de São Paulo, Minas Gerais e Espírito Santo, mostrando variações na região posterior dos frontoparietais e nos tubérculos metacarpais internos e externos, o que poderia sugerir a existência de outras linhagens no complexo *P. boiei*. Além disso, Prado & Pombal-Jr. (2008) também sinonimizaram *Proceratophrys fryi* com *Proceratophrys boiei* por não encontrarem caracteres que distinguíssem essas espécies. Posteriormente, Amaro et al. (2012), a partir de ferramentas moleculares e citogenéticas, encontraram três linhagens profundamente divergentes sob o táxon *P. boiei*: duas linhagens Norte, subdivididas em Norte 1 (N1, populações do Espírito Santo e Minas Gerais) e Norte 2 (N2, populações do norte de São Paulo, sul de Minas Gerais e Rio

de Janeiro), e uma linhagem Sul (S, populações do sul de Santa Catarina ao sul do estado de São Paulo). Neste mesmo estudo, os autores evidenciaram a linhagem S possui a Região Organizadora Nucleolar (NOR), localizada no braço curto subtelocêntrico do par 4, e as populações das linhagens N1 e N2, apresentam a NOR no braço curto submetacêntrico do par 8. Mais recentemente, Silva et al. (2021) realizaram um estudo com abordagens citogenéticas e citológicas para algumas espécies de *Proceratophrys*, e evidenciaram o mesmo achado que Amaro et al. (2012) quanto a NOR, reforçando ainda mais essas diferenças entre as três linhagens.

Além das características já avaliadas para as populações de *Proceratophrys boiei*, mencionadas acima, o canto de anúncio da espécie foi descrito por Heyer et al. (1990), para uma população proveniente de Boracéia, São Paulo, a aproximadamente 550 km da localidade-tipo [no trabalho de Prado & Pombal-Jr. (2008) foi definido como Rio de Janeiro], representada como a linhagem N2 definida por Amaro et al. (2012). No entanto, não há nenhum trabalho que aborde a avaliação da variação do canto de anúncio ao longo de toda a distribuição da espécie que, atualmente, tem ocorrência registrada para áreas de Mata Atlântica em seis estados brasileiros: sul de Minas Gerais, sul de São Paulo, sul do Espírito Santo, leste de Santa Catarina (SC), leste do Paraná e oeste do Rio de Janeiro (Frost, 2023).

Nos últimos 14 anos, alguns estudos com interesse nas resoluções taxonômicas envolvendo a espécie *Proceratophrys boiei* foram publicados (e.g. Prado & Pombal, 2008; Amaro et al., 2012; Silva et al., 2021). Porém, ainda existem questionamentos taxonômicos com relação a validade de algumas espécies já sinonimizadas à *Proceratophrys boiei*, uma vez que, geralmente, espécies que são amplamente distribuídas podem enfrentar barreiras físicas, como rios (Nascimento et al., 2013; Werneck et al., 2015), cadeias de montanhas (Firkowski et al., 2016; Oswald et al., 2022), e até mesmo gradientes latitudinal e longitudinal (Marcelino et al., 2009; Fonseca et al., 2018), que podem influenciar na estruturação genética, na variação morfológica e nos parâmetros do canto de anúncio (Feio et al., 2006; Menezes et al., 2016; Mângia et al., 2017). Essas variações entre as populações ao longo de um gradiente geográfico podem ocorrer em maior ou menor escala e, geralmente, quanto mais distanciadas estão as populações, mais diferentes elas são (Futuyma, 2002). Contudo, o grau de divergência é variável, tornando-se, às vezes, difícil avaliar se a variação entre as populações representa apenas uma espécie com variabilidade morfológica/acústica/molecular ou um complexo de espécies que se encontram sob um mesmo nome (Silva et al., 2008; Forti et al., 2015).

Dessa forma, a revisão taxonômica das populações identificadas como *Proceratophrys boiei*, por meio de uma abordagem integrativa, avaliando a morfologia externa, morfometria, acústica e osteologia ao longo de toda a distribuição da espécie, é imprescindível para verificar a validade das espécies que foram sinonimizadas à *Proceratophrys boiei* e, assim, estabelecer uma base taxonômica sólida para estas populações.

MATERIAL E MÉTODOS

Analizamos populações de *Proceratophrys boiei* ao longo de toda a sua distribuição utilizando espécimes das seguintes coleções científicas: CCLZU (Coleção Científica do Laboratório de Zoologia da Unitau, Taubaté, São Paulo, Brasil), MZUFV (Museu de Zoologia “João Moojen”, da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, Brasil), MCP-PUCRS (Museu de Ciências e Tecnologia da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil), ZUEC-AMP (Coleção de Anfíbios do Museu de Zoologia “Adão José Cardoso”, da Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia, Campinas, São Paulo, Brasil) e ZUFMS-AMP (Coleção Zoológica da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – Amphibia, Instituto de Biociências, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil). Também analisamos exemplares-tipo por fotografias concedidas pelas coleções: holótipo de (*Ceratophrys*) *intermedia* – HU-Zoo – Museum of Comparative Zoology e tipo de *Proceratophrys fryi* – NHM-London-Zoo – Zoological collection.

Avaliamos os exemplares seguindo as linhagens encontradas no estudo de Amaro et al. (2012): N1, N2 e S (ver Apêndice I). Analisamos machos e fêmeas separadamente e determinados pela presença/ausência de fendas vocais.

MORFOLOGIA EXTERNA

Analizamos os caracteres morfológicos de *Proceratophrys boiei* seguindo a padronização realizada por Guimarães (2022). Os caracteres que analisamos foram: tubérculos do corpo; cristas óculo-dorsais (COD); crista interocular (CIO); tubérculos palpebrais (TP); apêndices palpebrais (AP); apêndice rostral (AR); formato do focinho (FF); crista cantal (CC); cristas frontoparietais (CF); região entre as cristas frontoparietais (RECF); cristas escamosais (CE); crista pré-ocular (CPrO); crista pós-ocular (CPSO); tubérculos da comissura bucal (TCB); inchaços pós-oculares (IP); tímpano (TIM); tubérculos aumentados do antebraço (TAB); textura da pele dorsal (TPD); padrão de manchas ventrais (PMV); forma dos tubérculos palmar e plantar (FTPP); tubérculo metacarpal interno (TMCI); tubérculo metacarpal externo (TMCE); tubérculo metatarsal interno (TMTI), tubérculo metatarsal externo (TMTE); tubérculos tarsais (TT).

MORFOMETRIA

Apenas um pesquisador (L. Castro) tomou 14 medidas de cada exemplar, seguindo a proposta estabelecida por Guimarães (2022), utilizando paquímetro digital caliper, 0-150 mm. As 14 medidas morfométricas que utilizamos foram: Comprimento rostro-cloacal (CRC), comprimento da

cabeça (CC), Largura da cabeça (LC), comprimento do antebraço e mão (CABM), comprimento apêndice palpebral (CAP), distância do cordão ocular até o focinho (DCOF), distância internasal (DIN), distância olho-narina (DON), diâmetro do olho (DO), distância interorbital (DIO), comprimento da coxa (CCX), comprimento da tíbia (CTB), comprimento do pé (CP), comprimento relativo dos dedos e artelhos (CRDA).

Para verificar possíveis variações entre as linhagens, utilizamos análise multivariada da variância (MANOVA) e análise de componentes principais (PCA). Construímos as figuras dos polígonos no software R 4.2.1 (R Core Team 2020) usando os pacotes *vegan* (Oksanen et al., 2017), *ggplot2* (Wickham, 2016) e *ggfortify* (Tang et al., 2016).

OSTEOLOGIA

Para análise da osteologia, diafanizamos três machos adultos de cada linhagem, uma vez que tínhamos um maior número de exemplares machos do que de fêmeas. Assim, não utilizamos as fêmeas nesta etapa devido ao menor número de exemplares e padronização impossibilita o efeito do dimorfismo para essa análise. Para o processo de diafanização, seguimos o protocolo adaptado de Taylor & Van Dyke (1985; ver apêndice III). A análise dos caracteres osteológicos foi a mesma utilizada por Prado & Pombal-Jr. (2008): altura do processo alar (APA), profundidade da *pars palatina* do pré-maxilar (PPPPM), textura da superfície externa da *pars facialis* (TSEPF), fossetas ventrais posteriores dos maxilares (FVPM), formato do osso nasal em vista dorsal (FONVD), textura dos nasais (TN), altura da região posterodorsal dos nasais (ARPDN), contato entre nasais (CEN), contato entre nasais e frontoparietais (CENF), textura dos frontoparietais (TF), relevo dos frontoparietais em vista dorsal (RFVD), largura dos frontoparietais (LF); extensão posterolateral dos frontoparietais (EPLF); direcionamento da região posterior da crista dos ossos frontoparietais (DRPCOF); comprimento do ramo ótico do escamosal (CROE); processo cultriforme do parasfenóide (PrCPa); alcance da região anterior do processo cultriforme do parasfenóide (ARAPrCPa). Em adição, nós analisamos os nasais em relação ao esfenoetmóide (NRET); a espessura do ramo zigomático do escamosal (ERZE) em comparação com a espessura do ramo subótico do escamosal (ERSOE) e com a espessura do ramo subzigomático do escamosal (ERSZE).

ANÁLISE BIOACÚSTICA

Para obtenção de dados acústicos, solicitamos gravações do canto de anúncio de *Proceratophrys boiei* a pesquisadores e utilizamos gravações disponíveis em fonotecas: FNJV–UEC – Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard, Universidade Estadual de Campinas, Departamento

de Biologia Animal, Campinas, São Paulo, Brasil e Fonotropica – Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia, Brasil.

Analizamos os parâmetros acústicos (espectral e temporal) no software Raven Pro 1.6.1 (Cornell Lab of Ornithology Bioacoustics Research Program), com os seguintes parâmetros FFT window width = 512, Frame = 22050; Overlap = 50. Para construção do espectrograma, utilizamos o software R 4.2.1 (R Core Team 2020) usando os pacotes tuneR (Ligges et al., 2018) e Seewave (Sueur et al., 2008), seguindo os mesmos parâmetros na análise dos cantos.

Para a escolha dos parâmetros acústicos, seguimos estudos acústicos para o gênero *Proceratophrys* (e.g. Mângia et al., 2014; Nascimento et al., 2019; Simões et al., 2020): duração do canto, número de pulsos por canto, número de pulsos por segundo e frequência dominante. A terminologia para cada parâmetro seguiu Köhler et al. (2017).

RESULTADOS

MORFOLOGIA EXTERNA

Analizamos 131 exemplares de *Proceratophrys boiei* (79 machos, 52 fêmeas) de 48 localidades no sudeste e sul do Brasil (Figura 1, Apêndice I). Dentre estes, para cada linhagem encontrada por Amaro et al. (2012), analisamos 49 exemplares da linhagem N1 (25 machos e 24 fêmeas), 55 exemplares da N2 (37 machos e 18 fêmeas), e 27 exemplares da S (17 machos e 10 fêmeas).

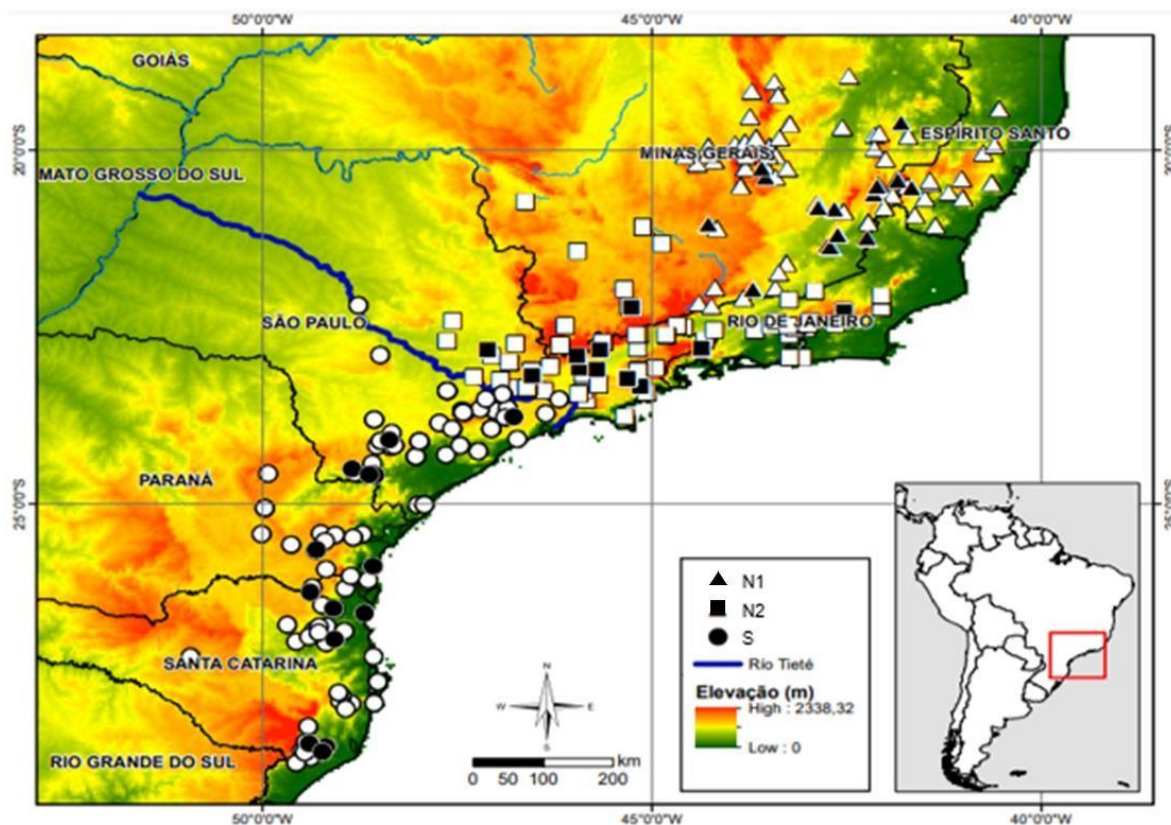


Figura 1. Distribuição geográfica das linhagens N1, N2 e S de *Proceratophrys boiei*. Os símbolos pretos representam populações que foram analisadas no presente estudo. Os símbolos brancos representam localidades que não analisamos.

A morfologia externa das três linhagens sob o nome *Proceratophrys boiei* é semelhante, e existe variação em todos os caracteres analisados, incluindo entre indivíduos de uma mesma linhagem, indicando grande polimorfismo (Figuras 2-5). Indivíduos das linhagens N1, N2 e S, podem apresentar apêndices palpebrais curtos ou longos, a crista cantal pode ser pouco visível, moderada ou acentuada e o cordão óculo-dorsal pode ser contínuo ou descontínuo. Por outro lado, destacamos algumas diferenças entre as linhagens como: os exemplares da linhagem S não apresentam crista óssea dos frontoparietais muito arqueadas (apenas os estados de pouco arqueada, $n = 16$, e não arqueada, $n = 11$), enquanto nos exemplares das linhagens N1 e N2 essa característica pode ser de muito (N1 = 6, N2 = 7, respectivamente), pouco (N1 = 26, N2 = 25) ou não arqueadas (N1 = 17, N2 = 23). A linhagem S também não apresenta o estado moderado das cristas ósseas dos frontoparietais, somente os estados de pouco visível ($n = 20$), e acentuada ($n = 7$). Além disso, a linhagem S foi a única que não apresentou a conformação 6 ($IV < I < II < III$) no comprimento relativo dos dedos das mãos. A linhagem N2 foi a única a apresentar focinho semicircular entre os exemplares analisados ($n = 4$), apesar de também possuir exemplares com focinho arredondado ($n = 17$) e quase arredondado ($n = 34$).

Dessa forma, a variação e sobreposição nos caracteres morfológicos observadas entre os indivíduos das três linhagens (N1, N2 e S), como já observado em um estudo prévio (Prado & Pombal, 2008), dificultam uma diagnose robusta que as separe. Portanto, nós focamos em outras fontes de dados (morfometria, acústica e osteologia) para determinar os limites de cada linhagem.

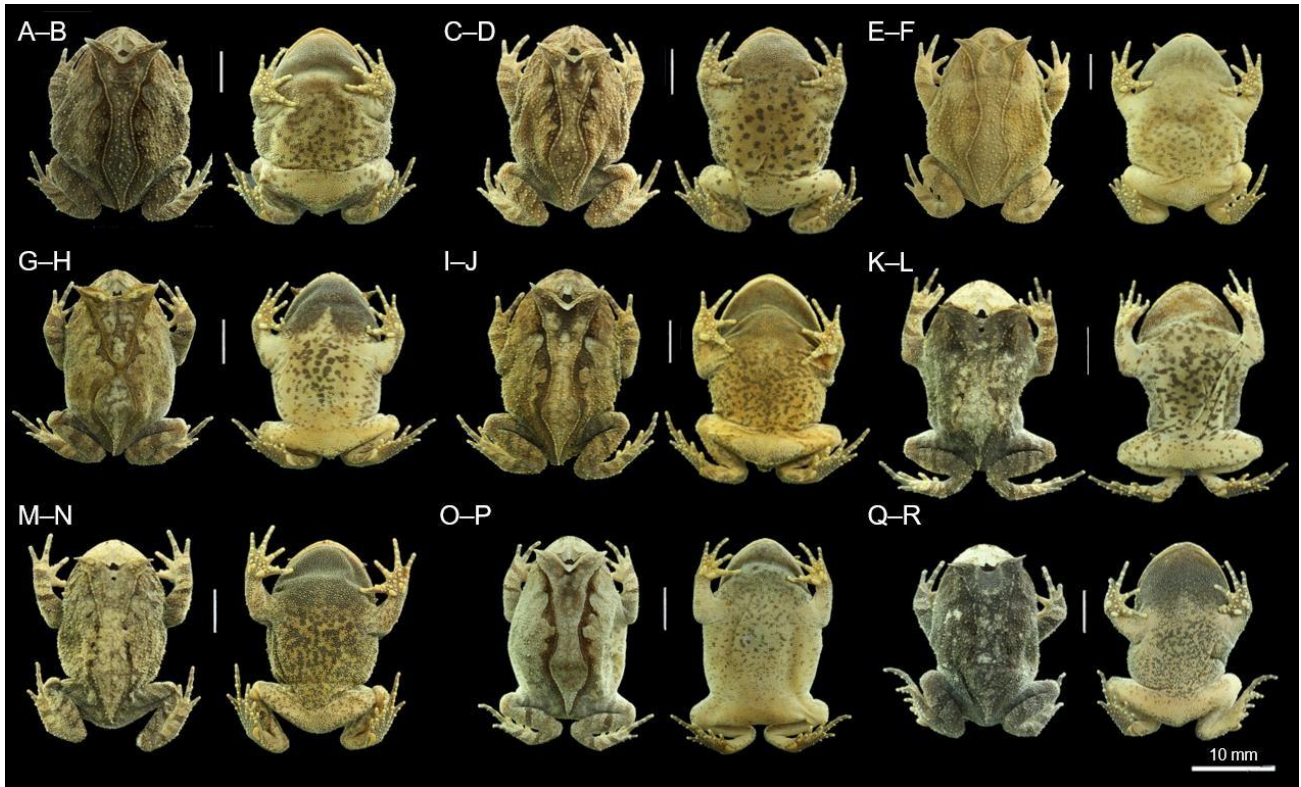


Figura 2. Vista dorsal e ventral de machos de *Proceratophrys boiei* de cada linhagem. (A–F) N1, (G–L) N2 e (M–R) S. (A–B) MZUFV 8007, (C–D) MZUFV 13304, (E–F) MZUFV 12202, (G–H) CCLZU 415, (I–J) CCLZU 1109, (K–L) CCLZU 1479, (M–N) MCP 12319, (O–P) MCP 6355, (Q–R) AZB 07.

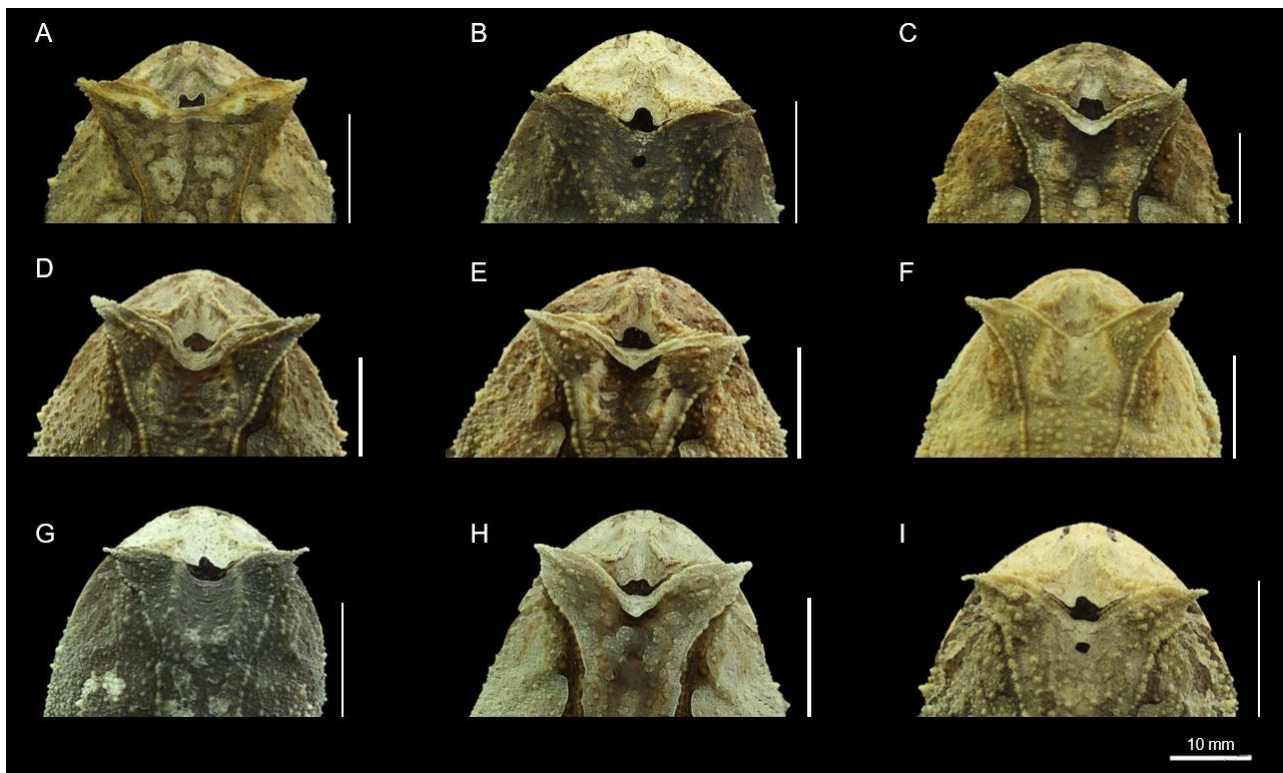


Figura 3. Vista dorsal do apêndice palpebral de machos de *Proceratophrys boiei* de cada linhagem. (A–C) N1, (D–F) N2 e (G–I) S. (A) MZUFV 8007, (B) MZUFV 13304, (C) MZUFV 12202, (D) CCLZU 415, (E) CCLZU 1109, (F) CCLZU 1479, (G) MCP 12319, (H) MCP 6355, (I) AZB 07.

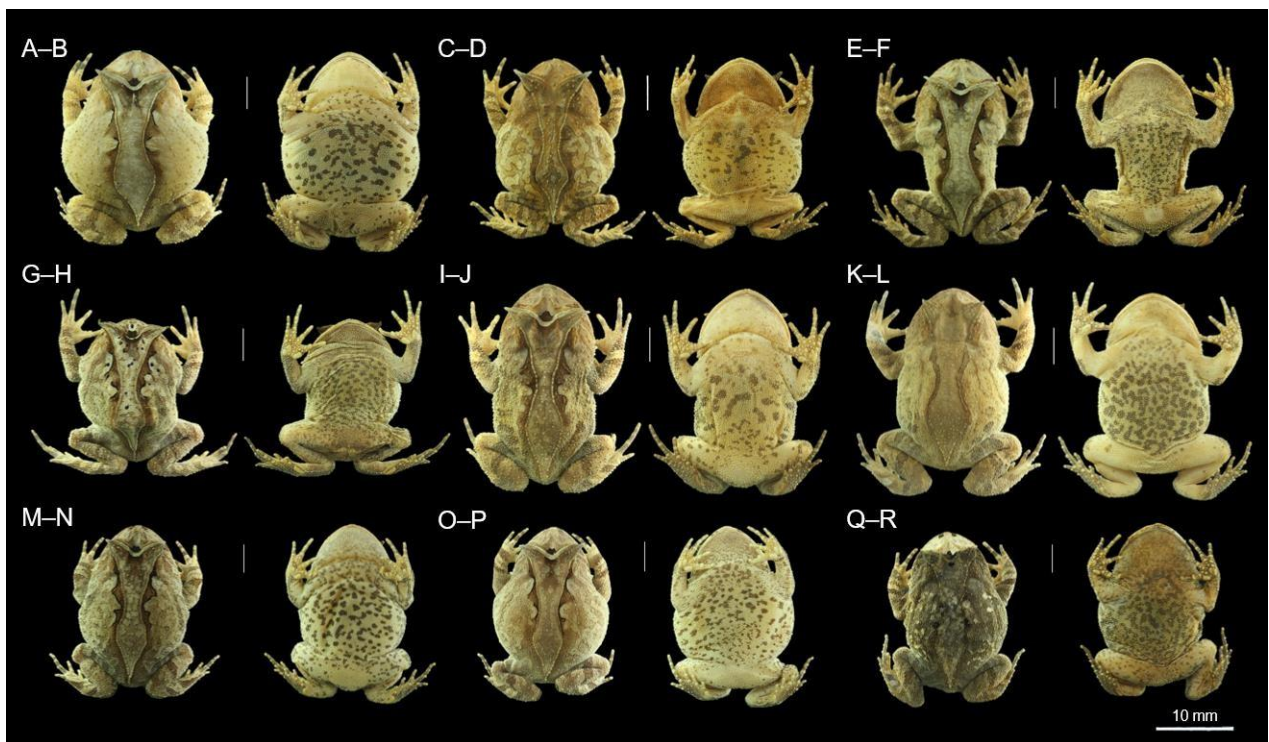


Figura 4. Vista dorsal e ventral de fêmeas de *Proceratophrys boiei* de cada linhagem. (A–F) N1, (G–L) N2, e (M–R) S. (A–B) MAP 7749, (C–D) MZUFV 13305, (E–F) MZUFV 15767, (G–H) IVBA 211, (I–J) CCLZU 1475, (K–L) CCLZU 2002, (M–N) ZUEC-AMP 4754, (O–P) MCP 7635, (Q–R) AZB 06.

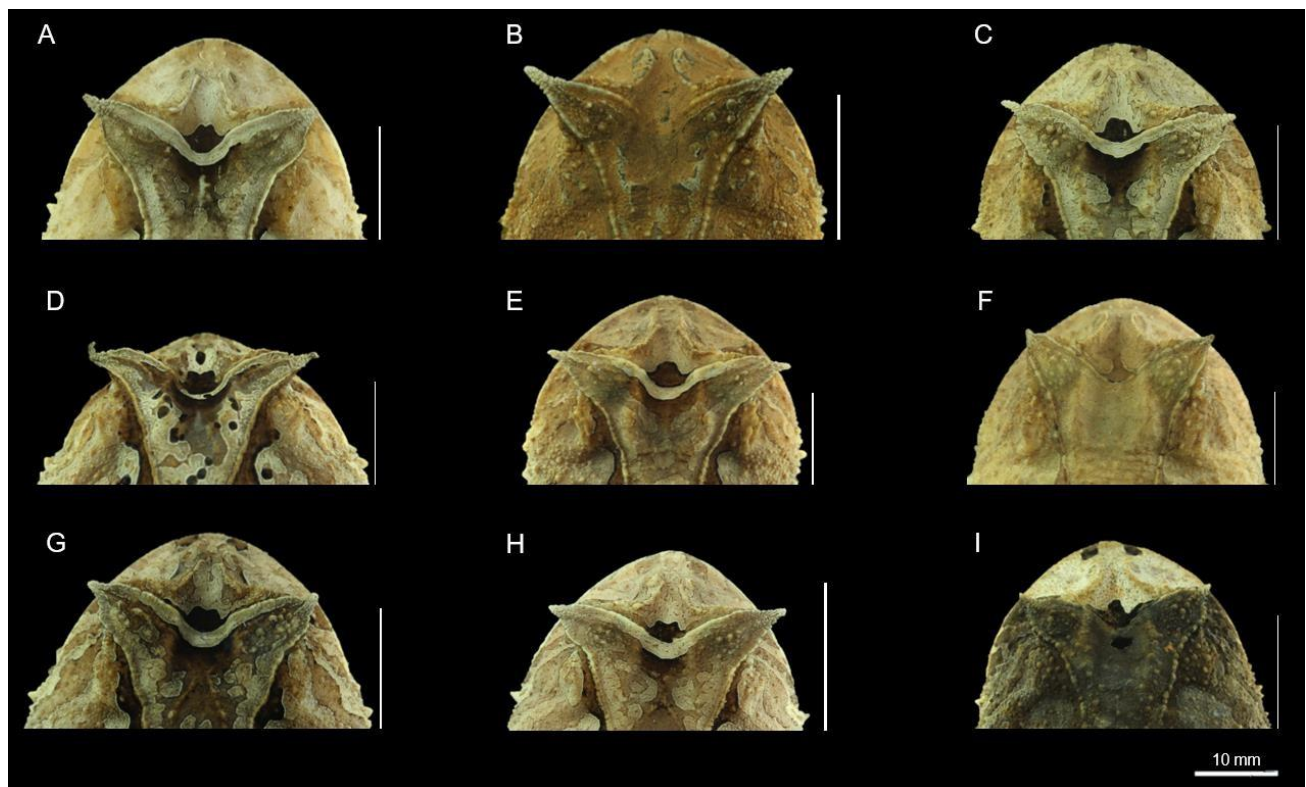


Figura 5. Vista dorsal do apêndice palpebral de fêmeas de *Proceratophrys boiei* de cada linhagem. (A–C) N1, (D–F) N2, e (G–I) S. (A) MAP 7749, (B) MZUFV 13305, (C) MZUFV 15767, (D) IVBA 211, (E) CCLZU 1475, (F) CCLZU 2002, (G) ZUEC-AMP 4754, (H) MCP 7635, (I) AZB 06.

MORFOMETRIA

Analizamos a morfometria de 126 exemplares de *Proceratophrys boiei* (80 machos, 46 fêmeas), provenientes de 49 localidades (Tabela 1).

Tabela 1. Morfometria das três linhagens de *Proceratophrys boiei*: N1, N2 e S. As medidas estão apresentadas em mm: média, desvio padrão e amplitude.

Medidas/ Linhagens	Norte 1		Norte 2		Sul	
	Machos (n = 25)	Fêmeas (n = 20)	Machos (n = 38)	Fêmeas (n = 18)	Machos (n = 17)	Fêmeas (n = 8)
Comprimento rostro-cloacal	51,5 ± 5,2 41,2–59,4	60,3 ± 8,6 41,3–71,2	50,0 ± 4,3 38,4–58,1	60,1 ± 10,3 42,1–79,1	46,0 ± 2,6 42,6–51,6	51,6 ± 9,3 42,8–68,6
Largura da cabeça	27,1 ± 2,6 21,2–31,1	30,9 ± 3,9 21,5–36,9	26,4 ± 2,9 19,3–30,8	31,5 ± 3,9 22,6–38,4	23,8 ± 1,5 21,1–25,9	26,0 ± 5,0 20,6–35,7
Comprimento da cabeça	21,4 ± 1,9 17,7–24,7	24,6 ± 2,5 18,8–28,7	21,3 ± 2,0 16,5–24,2	25,5 ± 3,0 18,0–31,1	19,6 ± 1,3 17,2–21,4	21,5 ± 3,6 17,6–28,1
Distância cordão ocular-focinho	12,9 ± 1,2 10,3–14,6	14,8 ± 1,8 10,7–17,3	12,4 ± 1,2 9,6–14,9	15,0 ± 1,7 10,5–17,8	11,7 ± 0,9 10,5–13,4	12,8 ± 2,4 10,0–17,2
Distância inter- nasal	3,0 ± 0,3 2,4–3,6	3,6 ± 0,5 2,4–4,5	3,1 ± 0,3 2,3–3,7	3,9 ± 0,4 2,9–4,4	2,8 ± 0,3 2,2–3,3	3,0 ± 0,5 2,5–3,9
Distância olho- narina	4,8 ± 0,5 3,9–5,6	5,8 ± 0,9 3,8–7,6	4,8 ± 0,6 3,2–6,0	6,0 ± 0,8 4,4–7,5	4,5 ± 0,4 3,8–5,5	4,9 ± 0,8 4,2–6,6
Diâmetro do olho	5,5 ± 0,7 4,1–7,0	5,8 ± 0,6 4,4–6,6	5,1 ± 0,6 3,7–6,3	5,9 ± 0,7 4,5–7,8	5,1 ± 0,4 4,5–6,0	5,3 ± 0,7 4,1–6,2
Comprimento apêndice palpebral	9,1 ± 1,2 6,5–11,4	9,9 ± 1,2 7,4–12,5	8,5 ± 1,1 6,3–11,2	9,9 ± 1,3 8,0–12,2	7,9 ± 0,9 6,5–10,3	8,7 ± 2,2 6,3–13,4
Distância interocular	8,9 ± 2,1 6,0–11,8	9,0 ± 2,3 6,4–13,4	9,6 ± 1,0 7,7–11,3	11,5 ± 1,0 9,3–13,3	7,0 ± 3,4 2,2–10,3	9,0 ± 2,9 3,2–13,6
Comprimento da coxa	20,8 ± 2,0 17,4–24,9	24,3 ± 3,4 16,2–28,4	20,4 ± 2,2 15,7–24,2	25,8 ± 3,2 18,3–30,8	19,0 ± 1,4 16,7–21,7	21,4 ± 3,7 17,6–28,1
Comprimento da tíbia	19,4 ± 1,6 16,3–22,0	23,0 ± 2,9 16,1–26,5	19,2 ± 1,8 14,9–22,3	24,2 ± 2,9 18,3–28,5	18,0 ± 1,2 16,3–20,9	19,4 ± 3,4 16,2–25,9
Comprimento do pé	29,4 ± 2,4 24,3–33,6	35,2 ± 4,5 25,1–40,2	29,0 ± 2,7 22,7–33,7	36,4 ± 4,1 27,2–43,4	27,0 ± 1,7 24,5–29,8	29,1 ± 4,7 23,9–38,4
Comprimento antebraço e mão	25,3 ± 2,3 20,0–29,1	30,1 ± 3,8 22,2–35,4	24,4 ± 2,7 17,9–29,2	31,0 ± 3,9 19,9–36,9	23,6 ± 1,8 21,0–26,8	25,0 ± 4,4 20,7–34,0

De forma geral, há sobreposição nos valores morfométricos das três linhagens (Tabela 1). Analisamos machos e fêmeas separadamente, uma vez que apresentam dimorfismo sexual (MANOVA, $F = 22,993$; $P = 0,000000000007567$; Figura 6). Quando comparamos machos e fêmeas separadamente, encontramos diferenças significativas entre as variáveis morfométricas das três linhagens (machos, $F = 3,3358$; $P = 0,01188$; Figura 7A; e fêmeas, $F = 5,5216$; $P = 0,0005271$; Figura 7B). Dentre as linhagens que avaliamos no presente estudo, os espécimes da linhagem N1

apresentaram a maior média do CRC (51,5 nos machos e 60,3 nas fêmeas; Tabela 1). Os espécimes da linhagem N2 apresentaram o CRC intermediário (50,0 nos machos e 60,1 nas fêmeas; Tabela 1) e os espécimes da linhagem S apresentaram a menor média do CRC (46,0 nos machos e 51,6 nas fêmeas; Tabela 1).

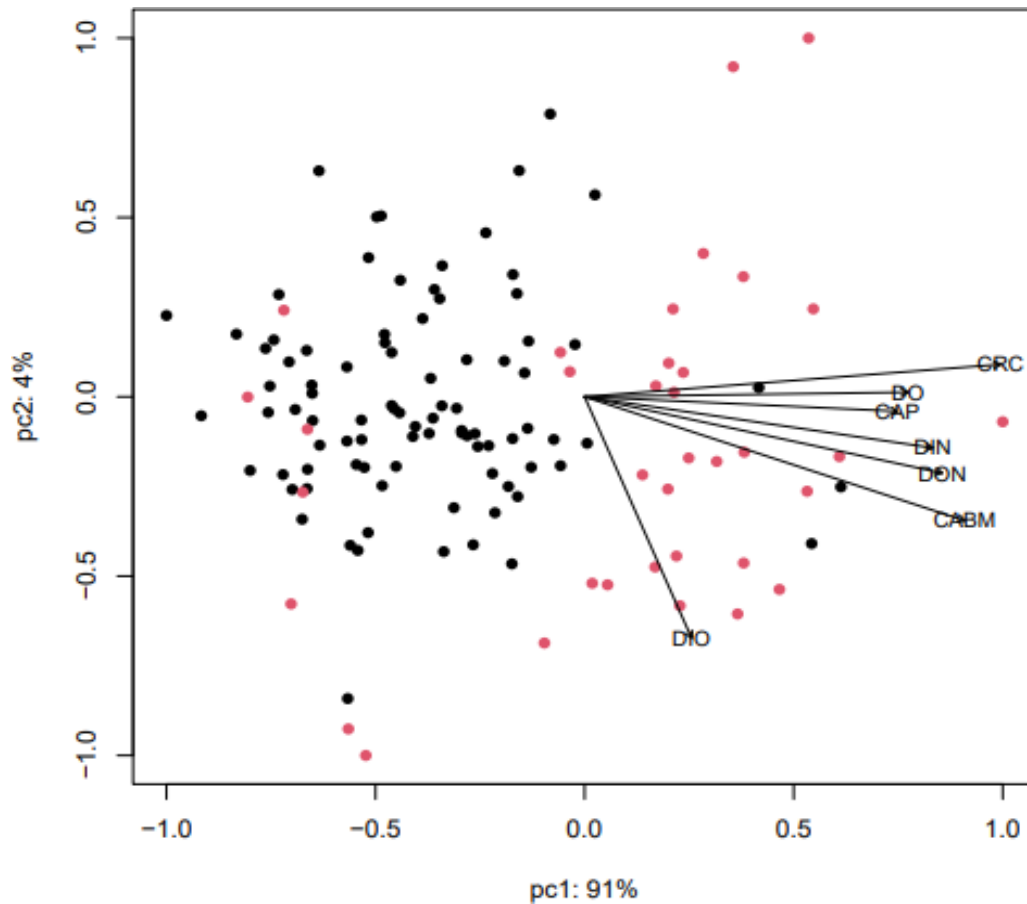


Figura 6. Análise de Principais Componentes para as três linhagens de *Proceratophrys boiei*. Variáveis não normais: LC, CC e CAP. Variáveis correlacionadas com CRC, acima de 90: LC, CC, DCOF, CCX, CTI e CP (MANOVA, $F = 22,993$; $P = 0,000000000007567$).

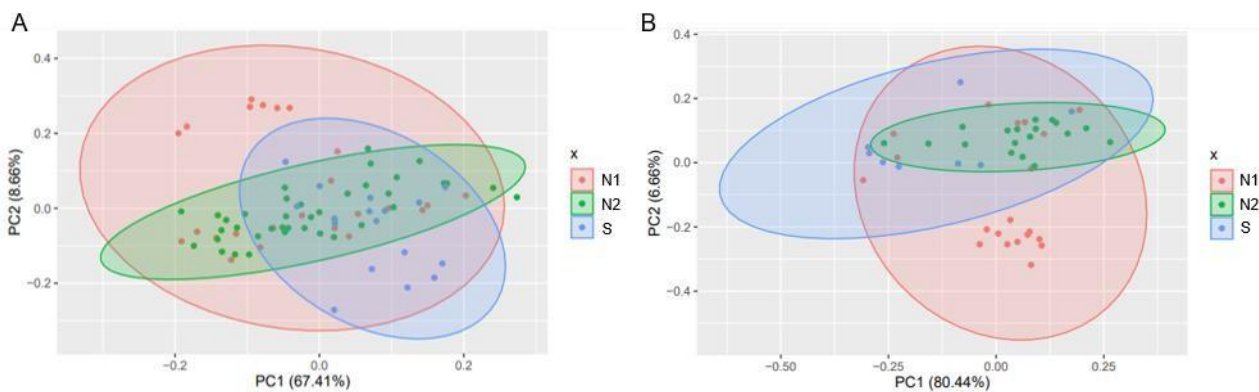


Figura 7. Análise de Principais Componentes para as três linhagens de *Proceratophrys boiei*, onde (A) machos (MANOVA $F = 3,3358$; $P = 0,01188$) e (B) fêmeas (MANOVA $F = 5,5216$; $P = 0,0005271$).

OSTEOLOGIA

Diafanizamos nove exemplares machos, provenientes de sete localidades, pertencentes às três linhagens: N1 (três indivíduos de Ervália, Minas Gerais – MAP 7750, 7793 e 7795), N2 (um indivíduo de Nova Friburgo, Rio de Janeiro – IVBA 266, um de Caçapava, São Paulo – 758 e um de Santo Antônio do Pinhal, São Paulo – 831), e S (um indivíduo de Azambuja, Pedras Grandes, Santa Catarina – Azb07, um de Blumenau, Santa Catarina – BLU 001, e um da Reserva Betary, Iporanga, São Paulo – 20176).

As características ósseas das três linhagens sob o nome *Proceratophrys boiei* são semelhantes, e existe variação em alguns caracteres analisados, incluindo entre indivíduos de uma mesma linhagem, indicando, assim como na morfologia externa, polimorfismo. Contudo, é possível observar algumas diferenças entre as três linhagens: os exemplares da linhagem N1 apresentam o nasal sobrepondo a região do esfenetmóide (Figura 8A), enquanto exemplares das linhagens N2 e S, não apresentam esta sobreposição (Figura 8B e 8C). Os exemplares da linhagem N2 apresentam espessura do ramo zigomático do escamosal, em média, duas vezes maior em comparação com a espessura do ramo subótico do escamosal (Figura 9B), enquanto as linhagens N1 e S apresentam o ramo zigomático do escamosal, em média, 1,4 e 1,7 vezes maior que a espessura do ramo subótico do escamosal, respectivamente (Figura 9A e 9C). A linhagem S apresenta espessura do ramo zigomático do escamosal 2,1 vezes maior em comparação a espessura do ramo subzigomático do escamosal (Figura 10C), enquanto as linhagens N1 e N2 são 3,0 e 2,6 vezes maior, respectivamente (Figura 10A e 10B).

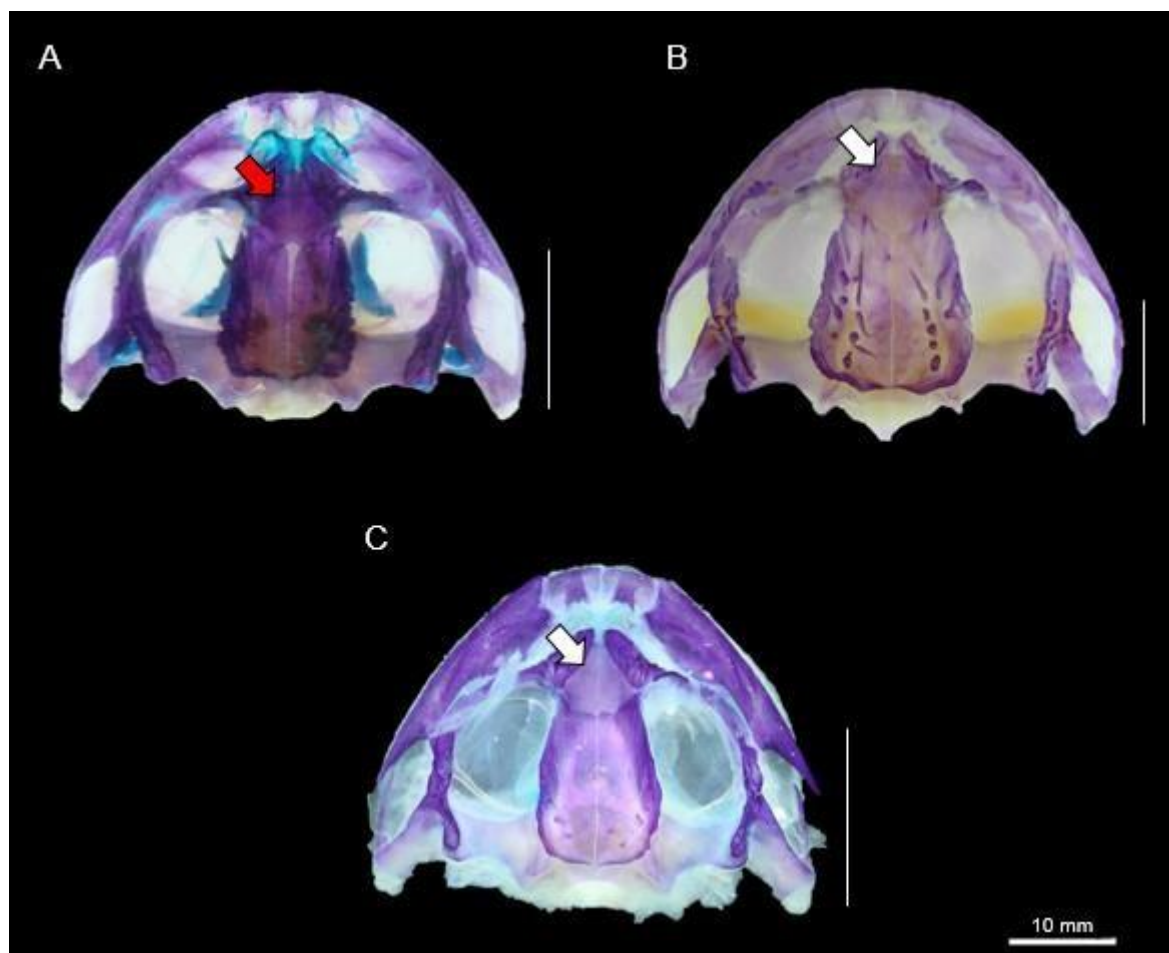


Figura 8. Esfenetmóide coberto pelo nasal. Seta vermelha indica característica diferente entre as espécies. (A) N1 – MAP 7793, (B) N2 – 758 e (C) S – 20176.

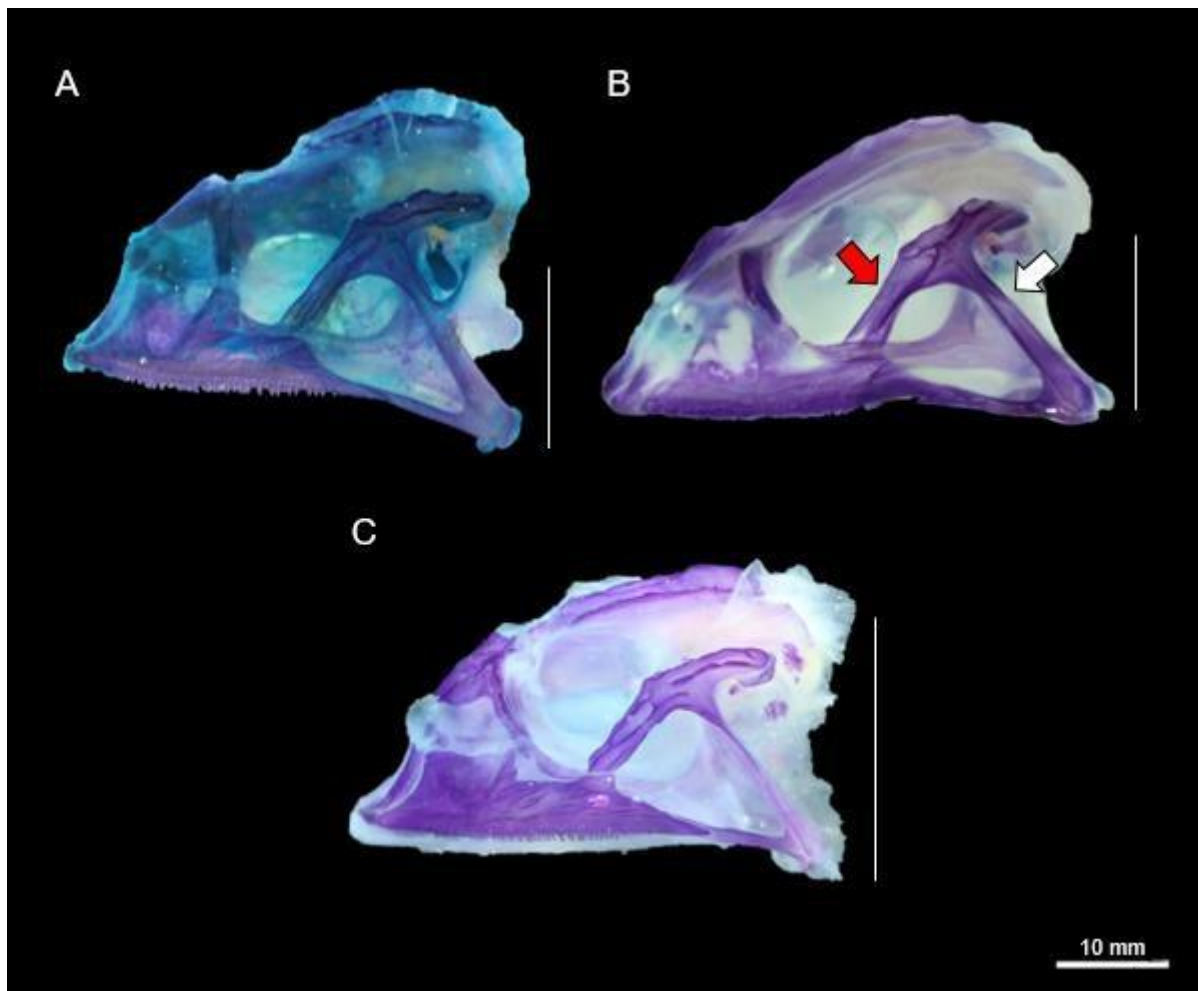


Figura 9. Ramo zigomático do escamosal (seta vermelha) em comparação com o ramo subótico do escamosal (seta branca). (A) N1 – MAP 7750, (B) N2 – 831 e (C) S – AZB 07.

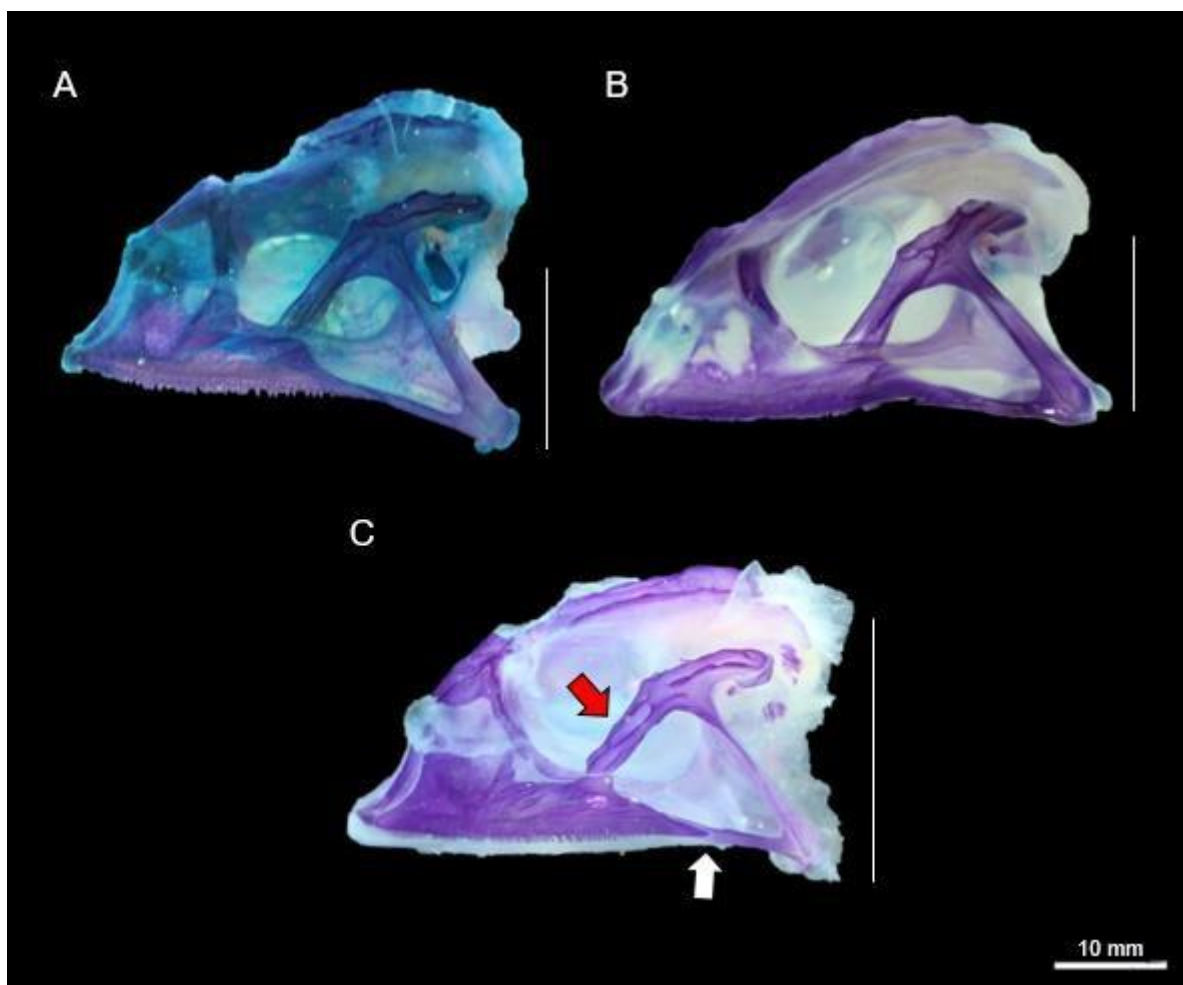


Figura 10. Ramo zigomático do escamosal (seta vermelha) em comparação com o ramo subzigomático do escamosal (seta branca). (A) N1 – MAP 7750, (B) N2 – 831 e (C) S – AZB 07.

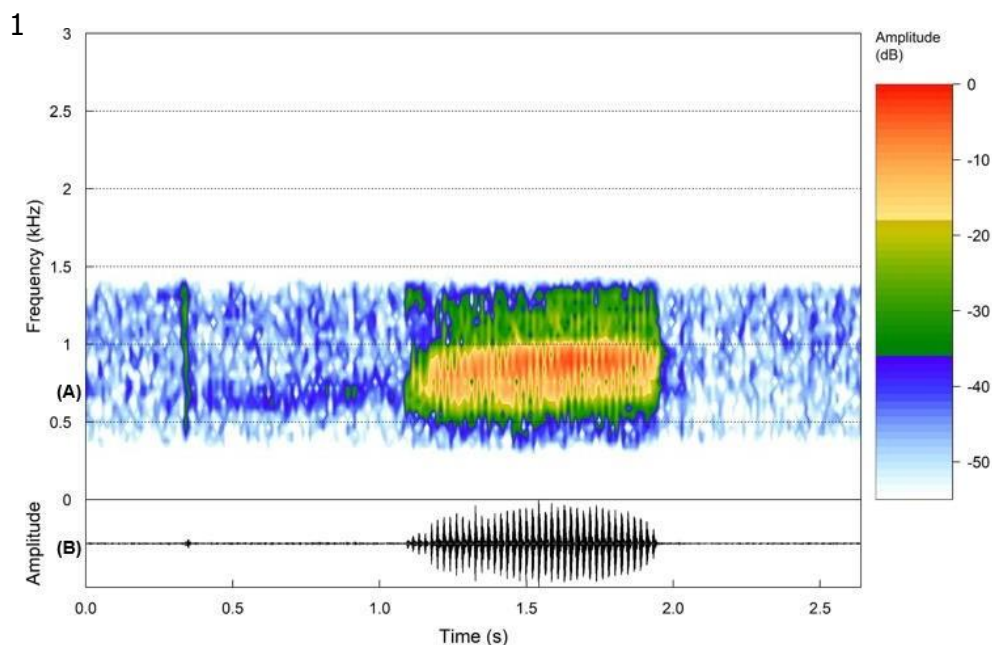
BIOACÚSTICA

Analizamos um total de 708 cantos de anúncio de 66 machos das três linhagens, provenientes de 27 localidades (Tabela 2): N1 (sete localidades), N2 (sete localidades), e S (13 localidades).

Tabela 2. Parâmetros acústicos do canto de anúncio de *Proceratophrys boiei* das três linhagens: N1, N2 e S. Os valores são apresentados: média, desvio padrão e amplitude.

Linhagens/parâmetros acústicos	Duração do canto (s)	Pulsos/canto	Pulsos/seg	Frequência dominante (Hz)
Norte 1 298 cantos, 24 machos	0,831 ± 0,211 0,58–1,68 (n = 93)	41,011 ± 13,534 28–97 (n = 93)	48,892 ± 4,113 42,87–57,93 (n = 93)	770,316 ± 51,859 646,00–904,40 (n = 298)
Norte 2 183 cantos, 12 machos	0,973 ± 0,177 0,50–1,32 (n = 183)	51,206 ± 9,570 32–71 (n = 141)	53,072 ± 6,977 40,96–66,26 (n = 141)	717,424 ± 50,003 602,93–818,26 (n = 183)
Sul 227 cantos, 30 machos	0,951 ± 0,121 0,36–1,35 (n = 116)	47,973 ± 6,374 21–63 (n = 111)	50,016 ± 4,572 41,46–62,15 (n = 111)	750,358 ± 67,568 562,50–861,33 (n = 224)

O canto de anúncio das três linhagens é composto por uma nota multipulsionada, emitido esporadicamente (Figura 11). No geral, existe sobreposição nos valores dos parâmetros avaliados para os cantos das três linhagens ($F = 1,8332$; $P > 0,05$) (Figura 12). Contudo, com relação à frequência dominante, a linhagem N1 atinge maiores valores (646–904,40 Hz), enquanto a linhagem S atinge os menores valores (562,50–861,33 Hz), e N2 apresenta a menor amplitude (602,93–818,26 Hz) entre as três linhagens (Tabela 2).



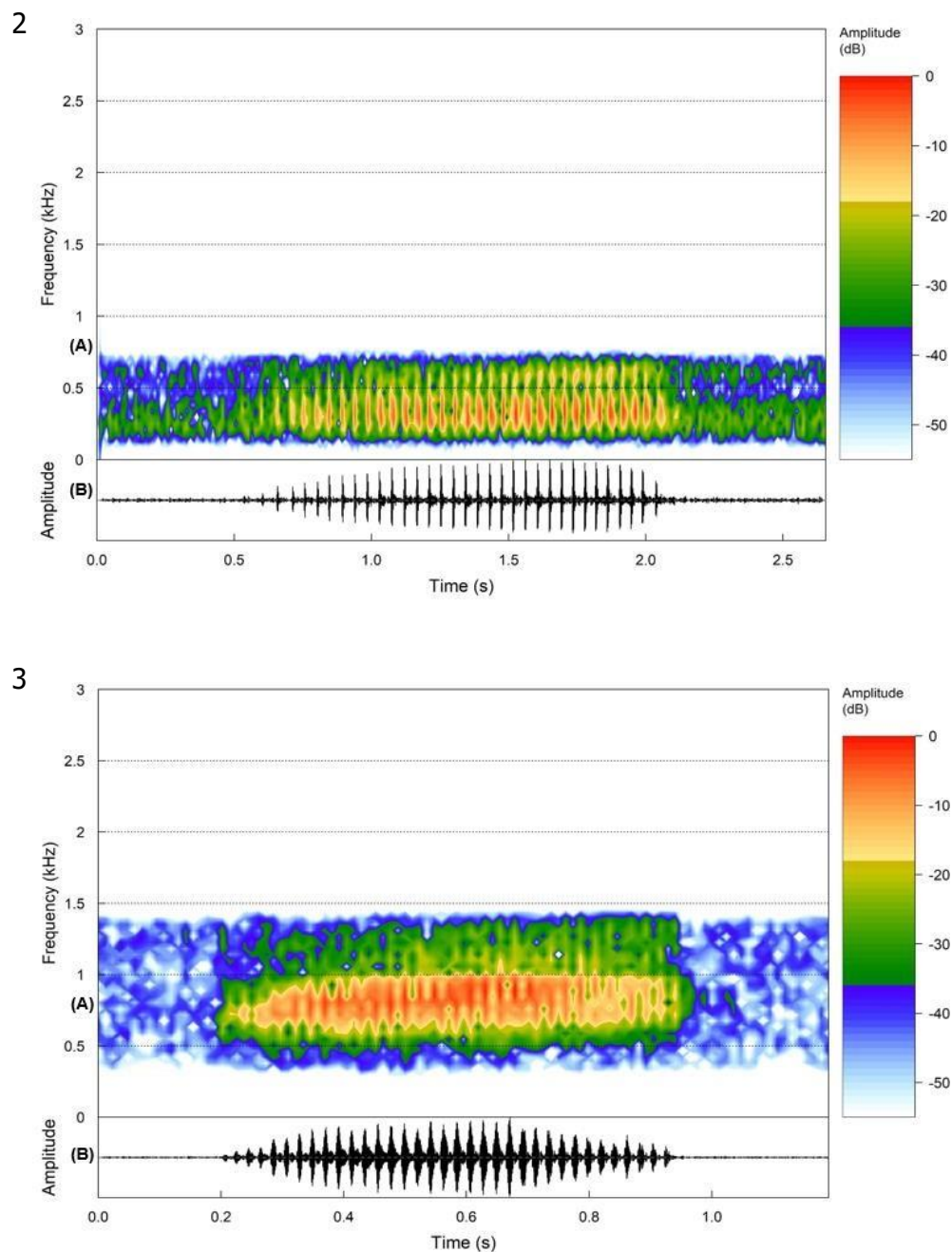


Figura 11. Canto de anúncio de três indivíduos de *Proceratophrys boiei* das linhagens N1, N2 e S. 1) N1 (Gravação Mascate2_01112008, não há dados disponíveis de temperatura do ar), 2) N2 (FNJV_0033758, temperatura do ar 19,4°C) e 3) S (FNJV_0012954, temperatura do ar 22,0°C). (A) Audiospectrograma e (B) oscilograma.

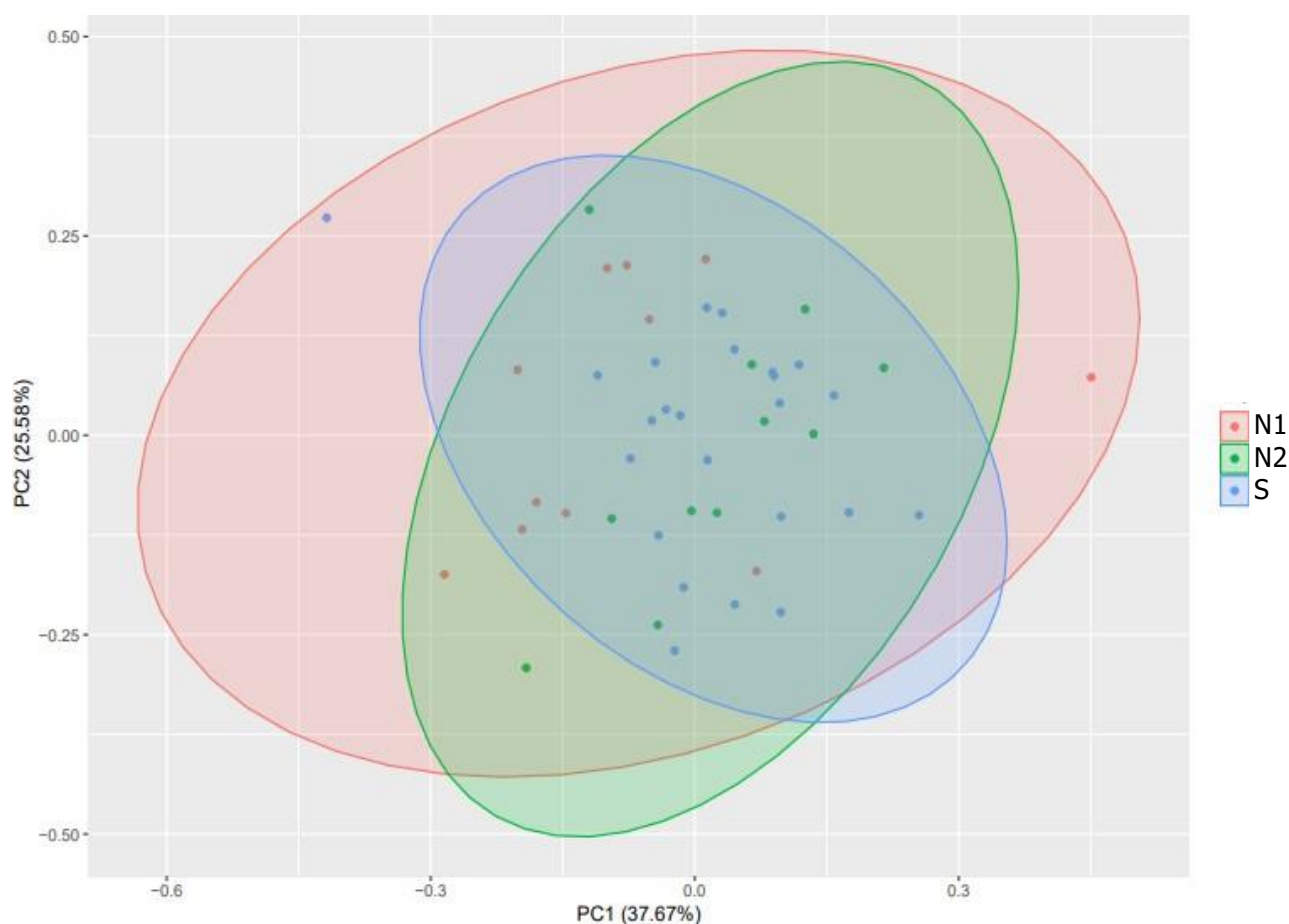


Figura 12. Análise multivariada da variância baseada nas variáveis acústicas dos cantos de anúncio das linhagens N1, N2 e S das populações sob *Proceratophrys boiei*.

IMPLICAÇÕES TAXONÔMICAS

A partir da avaliação de características morfológicas, morfométricas, acústicas e osteológicas, aliada aos resultados de estudos anteriores com base em dados moleculares (Amaro et al., 2012), condrocrânio de girino (Dias et al., 2013), e citogenética (Silva et al., 2021), verificamos que existem três espécies válidas sob o nome *Proceratophrys boiei*. A localidade-tipo conhecida para a espécie abrange as populações da linhagem N2, as quais, portanto, pertencem à *Proceratophrys boiei*. A linhagem N1, com distribuição geográfica mais ao norte do Brasil (Espírito Santo e Minas Gerais, com exceção ao sul), está associada à *P. fryi*, sinônima de *P. boiei*, enquanto a linhagem S, apresenta ocorrência mais ao sul do Brasil (Santa Catarina, Paraná e sul do estado de São Paulo, com o rio Tietê como barreira geográfica), pertence à *P. intermedia*, sinônima de *P. boiei*. Ambas foram sinonimizadas à *P. boiei* há 15 e 50 anos, respectivamente (Bokermann, 1966; Prado & Pombal-Jr. 2008). Desse, modo apresentamos a seguir a redescrição de *Proceratophrys boiei* e a revalidação de *P. fryi* e *P. intermedia*.

***Proceratophrys boiei* (Wied-Neuwied, 1824) – REDESCRIÇÃO**

(Figura 13)

Ceratophrys boiei Wied-Neuwied, 1824. Localidade-tipo: Rio de Janeiro e Bahia, Brasil. Restrita por Hoogmoed (1990) para Bahia; restrita por Prado & Pombal-Jr. (2008) para Rio de Janeiro.

Stombus boiei – Gravenhorst, 1829.

Ceratophrys granosa Cuvier, 1829. Localidade-tipo: não especificada.

Rana (*Ceratophrys*) *granosa* – Guérin-Méneville, 1838.

Stombus granosus – Fitzinger, 1861.

Ceratophrys boiei – Reinhardt & Lütken, 1862.

Ceratophrys fryi Günther, 1873. Holótipo: BMNH 29. Localidade-tipo: Serra da Mantiqueira, Minas Gerais, Brasil.

Ceratophrys dorsata boiei – Gadow, 1901.

Ceratophrys intermedia Barbour, 1908. Holótipo: MCZ A-2254. Localidade-tipo: Santa Catarina, Brasil.

Ceratophrys boiei – Miranda-Ribeiro, 1920.

Stombus boiei – Miranda-Ribeiro, 1920.

Stombus fryi – Miranda-Ribeiro, 1920.

Stombus intermedius – Miranda-Ribeiro, 1920.

Stombus boiei – B. Lutz, 1954.

Proceratophrys boiei – Lynch, 1971.

Proceratophrys fryi – Lynch, 1971.

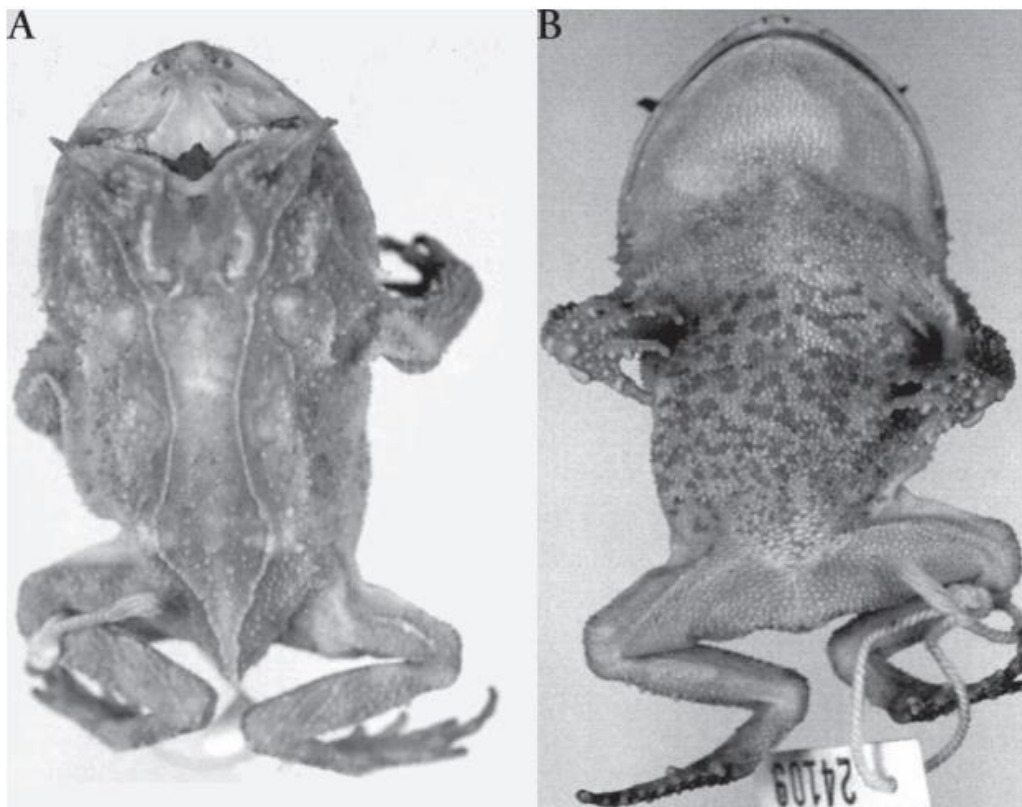


Figura 13. Lectótipo de *Proceratophrys boiei*. (A) Dorso e (B) ventre. Fonte: Prado & Pombal Jr. (2008).

Espécime-tipo – A espécie foi descrita por Wied-Neuwied (1824) e redescrita pelo mesmo autor em 1825, utilizando o lectótipo RMNH 24109, do estado do Rio de Janeiro.

Lectótipo – (RMNH 24109; CRC 53,1 mm), ♀ adulta (figura 13). Localidade-tipo: restrita para Rio de Janeiro, Brasil, por Prado & Pombal-Jr. (2008).

Diagnose – *Proceratophrys boiei* é caracterizado pela seguinte combinação de caracteres: 1) tamanho médio (CRC: 39,8-61,9 mm em machos, n = 38; 40,0-74,3 mm em fêmeas, n = 18); 2) apêndice palpebral único; 3) cordão óculo-dorsal com constrição na região medial do dorso; 4) manchas ventrais vermiculares ou arredondadas (predominância de círculos pequenos ou grandes); 5) canto de anúncio com 0,50–1,32 s, 32-71 pulsos/canto, 40,96–66,26 pulsos/segundo e frequência dominante de 602,93–818,26 Hz; 6) NOR desenvolve no par 8 submetacêntrico; 7) espessura do ramo zigomático 2,1 vezes maior que a espessura do ramo subótico do escamosal e; 8) nasais não contatam frontoparietais.

Comparação com outras espécies (as características das outras espécies estão entre parênteses) – A ausência de apêndices rostrais distingue *Proceratophrys boiei* de *P. appendiculata*, *P. melanopogon*, *P. mantiqueira*, *P. gladius*, *P. pombali*, *P. itamari*, *P. laticeps*, *P. moehringi*, *P. subguttata*, *P. sanctaritae*, *P. tupinamba*, *P. izecksohni*, *P. belzebul* e *P. phyllostomus* (apêndice

rostral presente). A presença de apêndices palpebrais distingue *Proceratophrys boiei* de *P. cristiceps*, *P. goyana*, *P. dibernardoi*, *P. branti*, *P. bagnoi*, *P. cururu*, *P. huntingtoni*, *P. moratoi*, *P. salvatori*, *P. strussmannae*, *P. vielliardi*, *P. carranca*, *P. rotundipalpebra*, *P. concavitympanum*, *P. ararype*, *P. korekore*, *P. velhochico*, *P. redacta* e *P. minuta* (apêndices palpebrais ausentes). A ausência de elevações pós-oculares distingue *Proceratophrys boiei* de *P. avelinoi*, *P. bigibbosa*, *P. brauni*, *P. palustris* e *P. kaingang* (elevações pós-oculares presentes). A presença de apêndice palpebral único distingue *Proceratophrys boiei* de *P. rondonae* e *P. schirchi* (apêndice palpebral multicuspidado). O cordão óculo-dorsal, contínuo ou descontínuo distingue *Proceratophrys boiei* de *P. kaingang* (cordão óculo-dorsal incompleto e descontínuo). O padrão de manchas vermiculares ou arredondadas, com predominância de círculos pequenos ou grandes na região ventral de *P. boiei*, o distingue de *P. paviotii* (manchas irregulares na região ventral). O canto de anúncio de *Proceratophrys boiei* apresenta 32-71 pulsos/canto, o que diferencia a espécie de *P. renalis* (13-30 pulsos/canto) e *P. paviotii* (26-32 pulsos/canto).

Além das diferenças mencionadas acima com base em análises feitas no presente estudo, a partir de reconstruções bayesianas e de máxima verossimilhança com três genes (16S, citocromo *b* e RAG-1) de populações ao longo de toda a distribuição de *P. boiei*, foram recuperadas três linhagens distintas (Amaro et al., 2012). A linhagem N2 pertence a *Proceratophrys boiei*.

Características adicionais do lectótipo – Prado & Pombal (2008) forneceram a descrição e ilustração do lectótipo, o qual possui um apêndice palpebral curto, triangular, cordão óculo-dorsal com constrição na região pré-sacral, descontínuo, com tubérculos curtos, arredondados, fundidos e/ou não fundidos e focinho quase arredondado em vista dorsal.

Osteologia – Altura do processo alar (APA): corresponde a 95% da largura do pré-maxilar; profundidade da *pars palatina* do pré-maxilar (PPPPM): muito profunda, seu comprimento corresponde a mais de 50% da largura do pré-maxilar; textura da superfície externa da *pars facialis* (TSEPF): pode ser lisa ou lisa, com três protuberâncias desenvolvidas, distribuídas em fileira diagonal sob a órbita, a anterior mais elevada; fossetas ventrais posteriores dos maxilares (FVPM): pode ser muito profundas e evidentes, pouco profunda ou não evidentes; formato do osso nasal em vista dorsal (FONVD): em forma de bumerangue; textura dos nasais (TN): irregular, com sulcos e protuberâncias, estas em maior número e mais aglomeradas na região pósterodorsal; altura da região pósterodorsal dos nasais (ARPDN): nasais pouco projetados pósterodorsalmente, sua altura não ultrapassa, ou pouco ultrapassa, a altura da região anterior dos frontoparietais; contato entre nasais (CEN): nasais não se contatam; contato entre nasais e frontoparietais (CENF): nasais não contatam frontoparietais; textura dos frontoparietais (TF): pode ser lisa, irregular, com sulcos e protuberâncias distribuídas na margem externa dos frontoparietais e/ou escavada, com sulcos e cavidades distribuídas nas laterais e em toda a região posterior dos frontoparietais; relevo dos frontoparietais em vista dorsal (RFVD): aplanado-côncavo, a região plana correspondendo à metade interna de cada frontoparietal, e a região côncava, à metade externa; largura dos

frontoparietais (LF): frontoparietais mais largos medialmente; extensão póstero-lateral dos frontoparietais (EPLF): extensão póstero-lateral ausente; direcionamento da região posterior da crista dos ossos frontoparietais (DRPCOF): região posterior da crista curvada em direção ao frontoparietal adjacente, afastando-se da margem da órbita; comprimento do ramo ótico do escamosal (CROE): menor que o comprimento do ramo zigomático do escamosal (comprimento do ramo ótico correspondendo a 65% do ramo zigomático do escamosal); processo cultriforme do parasfenóide (PrCPa): mais largo até o seu terço médio; alcance da região anterior do processo cultriforme do parasfenóide (ARAPrCPa): pode alcançar ou não os palatinos; nasais em relação ao esfenetmóide (NRET): não cobrem a região do esfenetmóide; a espessura do ramo zigomático do escamosal (ERZE) é 2,6 vezes maior que a espessura do ramo subzigomático do escamosal (ERSZE); a espessura do ramo zigomático do escamosal (ERZE) é 2,1 vezes maior que a espessura do ramo subótico do escamosal (ERSOE).

Variação – Apêndices palpebrais presentes, curtos (n = 20) ou longos (n = 35), com formato triangular (n = 53) ou triangular pontado (n = 2); formato do focinho em vista dorsal pode ser arredondado (n = 17), quase arredondado (n = 34) ou semicircular (n = 4). A crista cantal pode ser pouco visível (n = 3), moderada (n = 10) ou acentuada (n = 42); ela pode ser lisa (n = 43) ou rugosa (n = 12). A crista dos frontoparietais pode ser pouco visível (n = 17), moderada (n = 4) ou acentuada (n = 34), com predominância de acentuados; pode ser muito (n = 7), pouco (n = 25) ou não arqueadas (n = 23); a porção posterior dos frontoparietais é curvada para o centro da cabeça. A região entre a crista dos frontoparietais pode ser rasa (n = 43) ou profunda (n = 12), com predominância de rasos. A crista dos ossos escamosais pode ser pouco (n = 49), moderada (n = 3) ou muito proeminentes (n = 3). Na região da comissura bucal pode ser observado de um à quatro tubérculos, com formato cônico (n = 49) ou triangular (n = 6), no qual apresenta variação no tamanho destes. O tímpano pode ser distinto (definido como uma depressão na pele, atrás dos olhos e abaixo da crista do osso escamosal) (n = 20) ou indistinto (n = 35). O cordão interocular pode ser contínuo (n = 2) ou descontínuo (n = 53), leve (n = 29) ou marcadamente curvo (n = 26). O cordão óculo-dorsal é sempre presente, com constrição na região pré-sacral, pode ser contínuo (n = 52) ou descontínuo (n = 3), e os tubérculos que o constituem podem ser curtos, arredondados, fundidos e não fundidos. A coloração dorsal varia entre tons de marrom, creme e cinza; quanto a superfície ventral, machos e fêmeas possuem manchas vermiculares ou arredondadas (predominância de círculos pequenos ou grandes), que podem se estender da região gular aos membros ou serem restritas a região abdominal; os machos frequentemente apresentam a região gular escura ou esmaecida. O tubérculo metacarpal interno pode ser oval (n = 43) ou elíptico (n = 12); e os externos podem ser separados (n = 16) ou bífidos (n = 39), com o medial oval (n = 46), elíptico (n = 4) ou arredondado (n = 5), e o distal oval (n = 40), elíptico (n = 13) ou arredondado (n = 2). O tubérculo metatarsal interno pode ser elíptico (n = 34), elíptico curvado e proeminente (n = 14) ou borda alargada (n = 9). Podem apresentar de uma à duas fileiras de tubérculos no antebraço. O comprimento relativo dos dedos das mãos, pode seguir seis formas: comprimento relativo dos

dedos (1) IV < II < I < III (n = 12), (2) II < IV < I < III (n = 15), (3) II < I < IV < III (n = 10), (4) I < IV < II < III (n = 4), (5) I < II < IV < III (n = 13) e (6) IV < I < II < III (n = 1); e dos pés: I < II < V < III < IV. Os ossos escamosais são fusionados, lisos ou rugosos, com ondulações ou não. Os frontoparietais podem ser lisos ou rugosos, com forte expansão ou não, justapostos com leve separação ou muito separados, com porção anterior pouco aberta. Os nasais não cobrem o esfenetmóide. O processo cultriforme do parasfenóide é largo na base e pode ser afilado ou não na porção distal.

Canto de anúncio – O canto de anúncio de *Proceratophrys boiei* (Figura 11.2) é composto por uma nota multipulsionada, com uma média de duração de $0,973 \pm 0,177$ s (0,50–1,32 s). O número de pulsos emitido por canto é $51,206 \pm 9,570$ (32–71 pulsos/canto), a taxa de emissão de pulsos por segundo é $53,072 \pm 6,077$ (40,96–66,26 pulsos/segundo), e a média da frequência dominante é $717,424 \pm 50,003$ Hz (602,93–818,26 Hz).

Girino – Não existem dados sobre a morfologia externa do girino de *Proceratophrys boiei*. O condocrânio da espécie foi descrito por Dias et al. (2013) baseado em girinos coletados nas seguintes localidades: Brasil, estado do Rio de Janeiro, município de Teresópolis – ZUFRJ 5099 (4 girinos; estágios 34–35) e estado de Minas Gerais, município de Camanducaia, Monte Verde – DZSJRP 1104.2 (2 girinos; estágios 32 e 37).

Distribuição geográfica – Ocorre principalmente no bioma Mata Atlântica, no estado do Rio de Janeiro, norte do estado de São Paulo e Sul de Minas Gerais, podendo ocorrer em áreas de transição de Cerrado (Figura 1).

***Proceratophrys fryi* (Günther, 1873) – REVALIDAÇÃO**

(Figura 14)

Proceratophrys fryi (Günther, 1873), status revalidado.

Ceratophrys fryi – Günther, 1873.

Stombus fryi – Miranda-Ribeiro, 1920.

Proceratophrys fryi – Lynch, 1971.

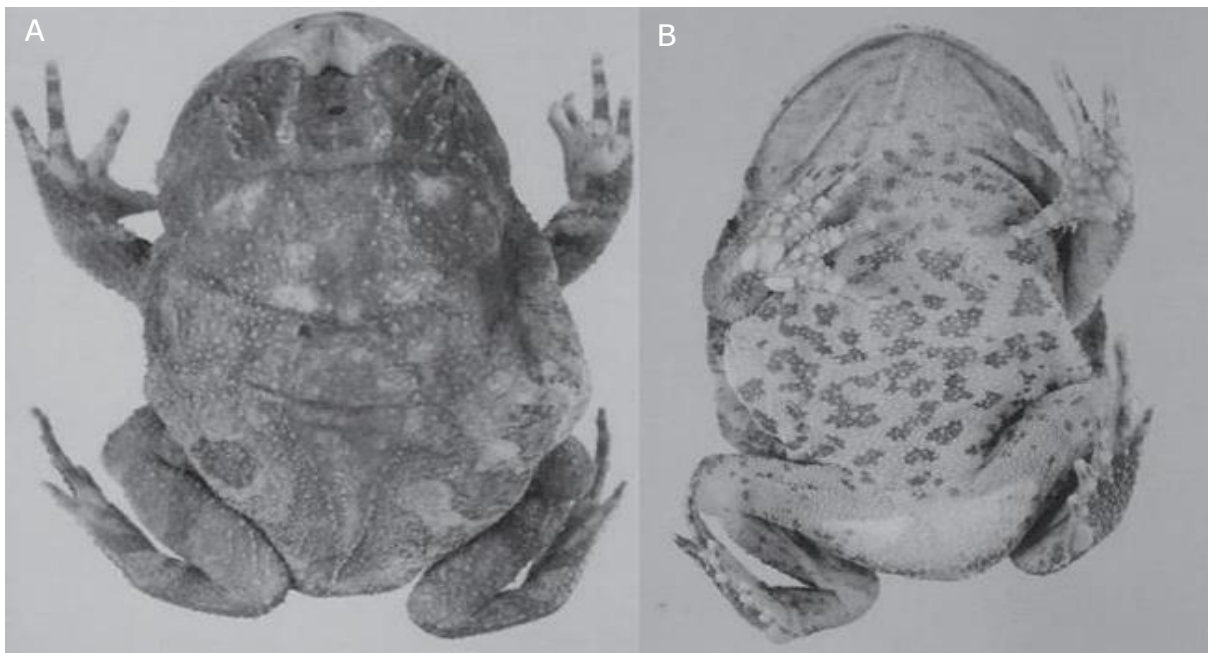


Figura 14. Holótipo de *Proceratophrys fryi* rev. (Günther, 1873). (A) Dorso e (B) ventre. Fonte: Prado & Pombal Jr. (2008).

Holótipo – BMNH 29 (CRC 68,0 mm), ♀ adulta (Figura 14), coletada na Serra da Mantiqueira, Minas Gerais, Brasil, por A. Fry e doado para Günther (1873). Não existem dados de coordenada geográfica ou data de coleta.

Diagnose – *Proceratophrys fryi* é caracterizado pela seguinte combinação de caracteres: 1) tamanho médio (CRC: 41,2-59,4 mm em machos, n = 25; 41,3-71,2 mm em fêmeas, n = 20); 2) apêndice palpebral único; 3) cordão óculo-dorsal com constrição na região medial do dorso; 4) manchas ventrais vermiculares ou arredondadas (predominância de círculos pequenos ou grandes); 5) canto de anúncio com 0,58–1,68 s, 28-97 pulsos/canto, 42,87-57,93 pulsos/segundo e frequência dominante de 646,00–904,40 Hz; 6) NOR desenvolve no par 8 submetacêntrico; 7) nasais cobre toda a região do esfenetmóide e; 8) nasais contatam frontoparietais.

Comparação com outras espécies (as características das outras espécies estão entre parênteses) – A ausência de apêndice rostral distingue *Proceratophrys fryi* de *P. appendiculata*, *P. melanopogon*, *P. mantiqueira*, *P. gladius*, *P. pombali*, *P. itamari*, *P. laticeps*, *P. moehringi*, *P. subguttata*, *P. sanctaritae*, *P. tupinamba*, *P. izecksohni*, *P. belzebul* e *P. phyllostomus* (apêndice rostral presente). A presença de apêndice palpebral distingue *Proceratophrys fryi* de *P. cristiceps*, *P. goyana*, *P. dibernardoj*, *P. branti*, *P. bagnoi*, *P. cururu*, *P. huntingtoni*, *P. moratoi*, *P. salvatori*, *P. strussmannae*, *P. vielliardi*, *P. carranca*, *P. rotundipalpebra*, *P. concavitympanum*, *P. ararype*, *P. korekore*, *P. velhochico*, *P. redacta*, *P. minuta* (apêndices palpebrais ausentes). A presença de apêndice palpebral único distingue *Proceratophrys fryi* de *P. rondonae* e *P. schirchi* (apêndice

palpebral multicuspidado). A ausência de elevações pós-oculares distingue *Proceratophrys boiei* de *P. avelinoi*, *P. bigibbosa*, *P. brauni*, *P. palustris* e *P. kaingang* (elevações pós-oculares presentes). O cordão óculo-dorsal, contínuo ou descontínuo distingue *Proceratophrys fryi* de *P. kaingang* (cordão óculo-dorsal incompleto e descontínuo). O padrão de manchas vermiculares ou arredondadas, com predominância de círculos pequenos ou grandes na região ventral de *P. fryi*, o distingue de *P. paviotii* (manchas irregulares na região ventral). O canto de anúncio de *Proceratophrys fryi* apresenta 28–97 pulsos/canto, diferenciando de *P. renalis* (13–30 pulsos/canto) e *P. paviotii* (26–32 pulsos/canto), e apresenta 42,87–57,93 pulsos/s, diferenciando de *P. renalis* (61,50–86,09 pulsos/s) e *P. paviotii* (0,012–0,015 pulsos/s). *Proceratophrys fryi* rev. difere de *P. boiei* por apresentar nasal cobrindo toda a região do esfenetmóide.

Além das diferenças mencionadas acima com base em análises feitas no presente estudo, a partir de reconstruções bayesianas e de máxima verossimilhança com três genes (16S, citocromo *b* e RAG-1) de populações ao longo de toda a distribuição de *P. boiei*, foram recuperadas três linhagens distintas (Amaro et al., 2012). *Proceratophrys fryi* pertence à linhagem N1.

Redescrição do holótipo [com base na descrição feita em Prado e Pombal (2008), e na análise das fotos do holótipo, Figura 14] – Apêndices palpebrais presentes, curtos, com formato triangular pontiagudo; apêndice rostral ausente; forma do focinho em vista dorsal arredondada, e em vista lateral, obtuso espatulado. A crista cantal é acentuada; rugosa. A crista dos frontoparietais é acentuada, muito arqueadas e a região posterior curvada para o centro da cabeça. A região entre os frontoparietais é profunda. A crista dos ossos escamosais é acentuada. Na região da comissura bucal pode ser observado um tubérculo, com formato cônico. Tímpano indistinto. O cordão interocular é contínuo, marcadamente curvo. O cordão óculo-dorsal é presente, com constrição na região pré-sacral, descontínuo, e os tubérculos que o constituem podem ser curtos, arredondados, fundidos e não fundidos. A textura da pele é rugosa, com tubérculos de diferentes tamanhos, principalmente cônicos e arredondados. O tubérculo metacarpal interno é elíptico; e os externos são separados, com o medial oval e o distal elíptico. O tubérculo metatarsal interno é borda alargada; e o externo, arredondado. Apresenta uma fileira de tubérculos no antebraço. Comprimento relativo entre os dedos das mãos: II < IV < I < III; e dos pés: I < II < V < III < IV.

Características adicionais do holótipo – Prado & Pombal (2008) forneceram a descrição e ilustração do holótipo, o qual possui um apêndice palpebral curto, triangular pontiagudo, cordão óculo-dorsal com constrição na região pré-sacral, descontínuo, com tubérculos curtos, arredondados, fundidos e/ou não fundidos e cordão interocular contínuo e marcadamente curvo.

Cor em conservante do holótipo – A coloração dorsal é marrom com partes em marrom escuro, com cor creme na região do focinho; quanto a superfície ventral é creme, possui manchas vermiculares e arredondadas (predominância de círculos pequenos ou grandes), de coloração marrom-escuro, que se estendem da região gular aos membros; a região gular é creme.

Osteologia – Altura do processo alar (APA): maior que a largura do pré-maxilar (altura do processo alar, correspondendo a 103% da largura do pré-maxilar); profundidade da *pars palatina* do pré-maxilar (PPPPM): muito profunda, seu comprimento correspondendo a mais de 50% da largura do pré-maxilar; textura da superfície externa da *pars facialis* (TSEPF): pode ser lisa ou lisa, com três protuberâncias desenvolvidas, distribuídas em fileira diagonal sob a órbita, a anterior mais elevada; fossetas ventrais posteriores dos maxilares (FVPM): podem ser muito profundas e evidentes ou pouco profundas; formato do osso nasal em vista dorsal (FONVD): em forma de bumerangue; textura dos nasais (TN): pode ser liso ou irregular, com sulcos e protuberâncias, estas em maior número e mais aglomeradas na região posterodorsal; altura da região posterodorsal dos nasais (ARPDN): nasais pouco projetados posterodorsalmente, sua altura não ultrapassa, ou pouco ultrapassa, a altura da região anterior dos frontoparietais; contato entre nasais (CEN): nasais não se contatam; contato entre nasais e frontoparietais (CENF): nasais em contato com frontoparietais; textura dos frontoparietais (TF): é lisa, escavada, com sulcos e cavidades distribuídas nas laterais e em toda a região posterior dos frontoparietais; relevo dos frontoparietais em vista dorsal (RFVD): aplanado-côncavo, a região plana correspondendo à metade interna de cada frontoparietal, e a região côncava, à metade externa; largura dos frontoparietais (LF): frontoparietais mais largos em sua metade posterior; extensão posterolateral dos frontoparietais (EPLF): extensão posterolateral ausente; direcionamento da região posterior da crista dos ossos frontoparietais (DRPCOF): região posterior da crista curvada em direção ao frontoparietal adjacente, afastando-se da margem da órbita; comprimento do ramo ótico do escamosal (CROE): menor que o comprimento do ramo zigomático do escamosal (comprimento do ramo ótico correspondendo a 74% do ramo zigomático do escamosal); processo cultriforme do parasfenóide (PrCPa): mais largo até o seu terço médio; alcance da região anterior do processo cultriforme do parasfenóide (ARAPrCPa): região anterior do processo cultriforme não alcança os palatinos; nasais em relação ao esfenetmóide (NRET): cobrem a região do esfenetmóide; a espessura do ramo zigomático do escamosal (ERZE) é 3 vezes maior que a espessura do ramo subzigomático do escamosal; a espessura do ramo zigomático do escamosal (ERZE) é 1,4 vezes maior que a espessura do ramo subótico do escamosal (ERSOE).

Variação – Apêndices palpebrais curtos (n = 13) ou longos (n = 36), com formato triangular (n = 35) ou triangular pontado (n = 14); formato do focinho em vista dorsal pode ser arredondado (n = 25) ou quase arredondado (n = 24). A crista cantal pode ser pouco visível (n = 12), moderada (n = 25) ou acentuada (n = 12); ela pode ser lisa (n = 27) ou rugosa (n = 22). A crista dos frontoparietais pode ser pouco visível (n = 12), moderada (n = 14) ou acentuada (n = 23), com predominância de acentuados; pode ser muito (n = 6), pouco (n = 26) ou não arqueadas (n = 17); a porção posterior dos frontoparietais pode ser não visível (n = 2) ou curvado para o centro da cabeça (47). A região entre a crista dos frontoparietais pode ser rasa (n = 28) ou profunda (n = 21). A crista dos ossos escamosais pode ser pouco (n = 32), moderada (n = 1) ou muito proeminentes (n = 16). Na região da comissura bucal pode ser observado de um a três tubérculos, com formato cônico (n = 26) ou triangular (n = 1), no qual apresenta variação no tamanho destes. O tímpano pode ser distinto

(definido como uma depressão na pele, atrás dos olhos e abaixo da crista do osso escamosal) ($n = 7$) ou indistinto ($n = 20$). O cordão interocular pode ser contínuo ($n = 2$) ou descontínuo ($n = 25$), leve ($n = 11$) ou marcadamente curvo ($n = 14$). O cordão óculo-dorsal é sempre presente, com constrição na região pré-sacral, pode ser contínuo ($n = 41$) ou descontínuo ($n = 8$), e os tubérculos que o constituem podem ser curtos ou alongados, arredondados, fundidos e/ou não fundidos. A coloração dorsal varia entre tons de marrom, creme, cinza e preto; quanto a superfície ventral, machos e fêmeas possuem manchas vermiculares ou arredondadas (predominância de círculos pequenos ou grandes), que podem se estender da região gular aos membros ou serem restritas a região abdominal; os machos frequentemente apresentam a região gular escura ou esmaecida. O tubérculo metacarpal interno pode ser oval ($n = 45$) ou elíptico ($n = 4$); e os externos podem ser separados ($n = 36$) ou bífidos ($n = 13$), com o medial oval ($n = 39$), elíptico ($n = 7$) ou arredondado ($n = 3$), e o distal oval ($n = 31$), elíptico ($n = 17$) ou arredondado ($n = 1$). O tubérculo metatarsal interno pode ser elíptico ($n = 35$), elíptico curvado e proeminente ($n = 9$) ou borda alargada ($n = 5$); e o externo, arredondado ($n = 43$) ou oval ($n = 6$). Podem apresentar de uma à duas fileiras de tubérculos no antebraço. O comprimento relativo dos dedos das mãos, pode seguir seis formas: (1) $IV < II < I < III$ ($n = 26$), (2) $II < IV < I < III$ ($n = 6$), (3) $II < I < IV < III$ ($n = 5$), (4) $I < IV < II < III$ ($n = 3$), (5) $I < II < IV < III$ ($n = 5$) e (6) $IV < I < II < III$ ($n = 4$); e dos pés: $I < II < V < III < IV$. Os ossos escamosais são fusionados, lisos ou rugosos, com ondulações ou não. Os frontoparietais podem ser lisos ou com poucas rugosidades, com expansão leve ou moderada, fundidos ou justapostos com leve separação, com porção anterior muito, pouco ou não aberta. Os nasais cobrem o esfenetmóide. O processo cultriforme do parasfenóide é largo na base e pode ser afilado ou não na porção distal.

Canto de anúncio – O canto de anúncio de *Proceratophrys fryi* (Figura 11.1) é composto por uma nota multipulsionada, com uma média de duração do canto de $0,831 \pm 0,211$ s (0,58–1,68 s). O número de pulsos emitido por canto é $41,011 \pm 13,534$ (28-97 pulsos/canto), a taxa de emissão de pulsos por segundo é $48,892 \pm 4,113$ (42,87-57,93 pulsos/segundo), e a média da frequência dominante é $770,316 \pm 51,859$ Hz (646,00–904,40 Hz).

Girino – Não existem dados sobre a morfologia externa e o condocrânio do girino de *Proceratophrys fryi*.

Distribuição geográfica – Ocorre principalmente no bioma Mata Atlântica, nas regiões sul do Espírito Santo e todo o estado de Minas Gerais, com exceção da porção sul deste estado, podendo ocorrer em áreas de transição de Cerrado (Figura 1).

***Proceratophrys intermedia* (Barbour, 1908) – REVALIDAÇÃO**

(Figura 15)

Proceratophrys intermedia (Barbour, 1908), status revalidado.

Ceratophrys intermedia – Barbour, 1908.

Stombus boiei – Miranda-Ribeiro, 1920.

Stombus intermedius – Miranda-Ribeiro, 1920.

Stombus boiei – B. Lutz, 1954.

Proceratophrys boiei – Lynch, 1971.



Figura 15. Holótipo de *Proceratophrys intermedia* rev. (Barbour, 1908). (A) Dorso e (B) ventre. Fonte: HU – MCZ: Herp: A-2254.

Tipo – A espécie foi descrita por Barbour (1908), a partir de um exemplar (MCZ A-2254) do estado de Santa Catarina, Brasil.

Holótipo – (MCZ A-2254; CRC 46,0 mm), ♂ adulto (Figura 15). Localidade-tipo: "Santa Katarina, Brazil", Barbour (1908).

Diagnose – *Proceratophrys intermedia* é caracterizado pela seguinte combinação de caracteres: 1) tamanho médio, se comparada com outras espécies do gênero (CRC machos 42,6-51,6 mm, n = 17; fêmeas 42,8-68,6 mm, n = 8); 2) apêndice palpebral único; 3) cordão óculo-dorsal com constrição na região medial do dorso ou não; 4) manchas ventrais vermiculares ou arredondadas (predominância de círculos pequenos ou grandes); 5) canto de anúncio com 0,36–1,35 s ($0,951 \pm 0,121$ s), 21-63 pulsos/canto ($47,973 \pm 6,374$), 41,46-62,15 pulsos/segundo ($50,016 \pm 4,572$) e frequência dominante de 562,50–861,33 Hz ($750,358 \pm 67,658$ Hz); 6) NOR desenvolve no par 4

subtelocêntrico; 7) apresenta a menor espessura do ramo zigomático do escamosal (2,1 vezes maior) em comparação a espessura do ramo subzigomático do escamosal e; 8) nasais contatam frontoparietais.

Comparação com outras espécies (as características das outras espécies estão entre parênteses) – A ausência de apêndice rostral distingue *Proceratophrys intermedia* de *P. appendiculata*, *P. melanopogon*, *P. mantiqueira*, *P. gladius*, *P. pombali*, *P. itamari*, *P. laticeps*, *P. moehringi*, *P. subguttata*, *P. sanctaritae*, *P. tupinamba*, *P. izecksohni*, *P. belzebul* e *P. phyllostomus* (apêndice rostral presente). A presença de apêndice palpebral distingue *Proceratophrys intermedia* de *P. cristiceps*, *P. goyana*, *P. dibernardo*, *P. branti*, *P. bagnoi*, *P. cururu*, *P. huntingtoni*, *P. moratoi*, *P. salvatori*, *P. strussmannae*, *P. vielliardi*, *P. carranca*, *P. rotundipalpebra*, *P. concavitympanum*, *P. ararype*, *P. korekore*, *P. velhochico*, *P. redacta* e *P. minuta* (apêndices palpebrais ausentes). A presença de apêndice palpebral único distingue *Proceratophrys intermedia* de *P. rondonae* e *P. schirchi* (apêndice palpebral multicuspidado). A ausência de elevações pós-oculares distingue *Proceratophrys boiei* de *P. avelinoi*, *P. bigibbosa*, *P. brauni*, *P. palustris* e *P. kaingang* (elevações pós-oculares presentes). O cordão óculo-dorsal, contínuo ou descontínuo distingue *Proceratophrys intermedia* de *P. kaingang* (cordão óculo-dorsal incompleto e descontínuo). O padrão de manchas vermiculares ou arredondadas, com predominância de círculos pequenos ou grandes na região ventral de *P. intermedia*, o distingue de *P. paviotii* (manchas irregulares na região ventral). O canto de anúncio de *Proceratophrys intermedia* apresenta 41,46–62,15 pulsos/s, diferenciando de *P. renalis* (61,50–86,09 pulsos/s) e *P. paviotii* (0,012–0,015 pulsos/s). *Proceratophrys intermedia* rev. difere de *P. boiei* e *P. fryi* por apresentar a menor espessura do ramo zigomático do escamosal: 2,1 vezes maior que o ramo subzigomático do escamosal (N1: 3 vezes e N2: 2,6 vezes maior). Por apresentar esfenetmóide coberto pelo nasal, *P. intermedia* também diferencia de *P. fryi* (esfenetmóide não coberto pelo nasal).

Além das diferenças mencionadas acima com base em análises feitas no presente estudo, a partir de reconstruções bayesianas e de máxima verossimilhança com três genes (16S, citocromo *b* e RAG-1) de populações ao longo de toda a distribuição de *P. boiei*, foram recuperadas três linhagens distintas (Amaro et al., 2012). *Proceratophrys intermedia* pertence à linhagem S. Ainda, *P. intermedia* distingue de *P. boiei* e *P. fryi* por desenvolver a Região Organizadora Nucleolar (NOR), no par 4 subtelocêntrico, enquanto as espécies do norte no par 8 submetacêntrico.

No estágio de Gosner 35, o girino de *P. intermedia* rev. pode ser diferenciado do girino de *P. boiei* por apresentar hipobranquial reduzido e pars reuniens expandido na região da linha média (Dias et al. 2013).

Redescrição do holótipo [com base na descrição feita em Barbour (1908), e na análise das fotos do holótipo, Figura 15] – Apêndices palpebrais presentes, curto, com formato triangular; apêndice rostral ausente; forma do focinho em vista dorsal semicircular, e em vista lateral, obtuso espatulado.

A crista cantal é acentuada e lisa. A crista dos frontoparietais é moderada; não arqueadas; e a região posterior é voltada para o centro da cabeça. A região entre os frontoparietais é rasa. A crista dos ossos escamosais é pouco visível. Na região da comissura bucal pode ser observado dois tubérculos, com formatos cônicos, no qual o anterior é maior. Tímpano indistinto. A região do cordão interocular não apresenta pele, que não é possível definirmos sua característica. O cordão óculo-dorsal é presente, com constrição na região pré-sacral, contínuo, e os tubérculos que o constituem são curtos, fundidos e alongados. A textura da pele é rugosa, com tubérculos de diferentes tamanhos, principalmente cônicos e arredondados. O tubérculo metacarpal interno é elíptico; e os externos são separados, com o medial oval e o distal elíptico. O tubérculo metatarsal interno é elíptico curvado e proeminente; e o externo, arredondado. Apresenta duas fileiras de tubérculos no antebraço. Comprimento relativo entre os dedos das mãos: $I < II < IV < III$; e dos pés: $I < II < V < III < IV$.

Características adicionais do holótipo – BARBOUR (1908) forneceu a descrição e ilustração do holótipo, o qual possui um apêndice palpebral curto, triangular, cordão óculo-dorsal com constrição na região pré-sacral, descontínuo, com tubérculos curtos, fundidos e alongados e focinho semicircular em vista dorsal.

Cor em conservante do holótipo – A coloração dorsal é marrom-claro, com algumas manchas marrons percorrendo ambas as linhas do cordão óculo-dorsal, além de manchas marrons em seus membros locomotores, o focinho apresenta uma cor creme, com uma linha preto dividindo ela do restante da coloração do corpo; a superfície ventral é de coloração creme, apresentando poucas manchas arredondadas de coloração marrom, que se estendem da região gular até à barriga; a palma das mãos e a planta dos pés tem coloração marrom-escuro; a região gular é escura.

Osteologia – Altura do processo alar (APA): maior que a largura do pré-maxilar (altura do processo alar correspondendo a mais que 90% da largura do pré-maxilar); profundidade da *pars palatina* do pré-maxilar (PPPPM): muito profunda, seu comprimento correspondendo a mais de 50% da largura do pré-maxilar; textura da superfície externa da *pars facialis* (TSEPF): lisa; fossetas ventrais posteriores dos maxilares (FVPM): pouco ou não evidentes; formato do osso nasal em vista dorsal (FONVD): em forma de bumerangue; textura dos nasais (TN): irregular, com sulcos e protuberâncias, estas em maior número e mais aglomeradas na região posterodorsal; altura da região posterodorsal dos nasais (ARPDN): nasais pouco projetados posterodorsalmente, sua altura não ultrapassa, ou pouco ultrapassa, a altura da região anterior dos frontoparietais; contato entre nasais (CEN): nasais não se contatam; contato entre nasais e frontoparietais (CENF): nasais em contato com frontoparietais; textura dos frontoparietais (TF): lisa, escavada, com sulcos e cavidades distribuídas nas laterais e em toda a região posterior dos frontoparietais; relevo dos frontoparietais em vista dorsal (RFVD): aplanado-côncavo, a região plana correspondendo à metade interna de cada frontoparietal, e a região côncava, à metade externa; largura dos frontoparietais (LF): frontoparietais mais largos medialmente; extensão posterolateral dos frontoparietais (EPLF):

extensão posterolateral ausente; direcionamento da região posterior da crista dos ossos frontoparietais (DRPCOF): região posterior da crista curvada em direção ao frontoparietal adjacente, afastando-se da margem da órbita; comprimento do ramo ótico do escamosal (CROE): menor que o comprimento do ramo zigomático do escamosal (comprimento do ramo ótico correspondendo a 83% do ramo zigomático do escamosal); processo cultriforme do parasfenóide (PrCPa): mais largo até o seu terço médio; alcance da região anterior do processo cultriforme do parasfenóide (ARAPrCPa): pode alcançar ou não os palatinos; nasais em relação ao esfenetmóide (NRET): não cobrem a região do esfenetmóide; a espessura do ramo zigomático do escamosal (ERZE) é 2,1 vezes maior que a espessura do ramo subzigomático do escamosal (ERSZE); a espessura do ramo zigomático do escamosal (ERZE) é 1,7 vezes maior que a espessura do ramo subótico do escamosal (ERSOE).

Variação – Apêndices palpebrais presentes, podem ser curtos (n = 9) ou longos (n = 18), com formato triangular (n = 25) ou triangular pontado (n = 2), alguns apresentam uma ponta branca no final; forma do focinho em vista dorsal pode ser semi-circular (n = 1), arredondado (n = 5) ou quase arredondado (n = 22). A crista cantal pode ser acentuada (n = 6), moderada (n = 15) ou pouco visível (n = 6); ela pode ser rugosa (n = 11) ou lisa (n = 16). A crista dos frontoparietais pode ser pouco visível (n = 20) ou acentuada (n = 7); pode ser pouco (n = 16) ou não arqueadas (n = 11); e a porção posterior pode ser não visível (n = 3) ou curvada para o centro da cabeça (n = 24). A região entre os frontoparietais é frequentemente rasa (n = 23), em alguns indivíduos é profunda (n = 4). A crista dos ossos escamosais pode ser muito (n = 3), moderada (n = 3) ou pouco proeminente (n = 21). Na região da comissura bucal pode ser observado de um a três tubérculos, com formato cônico (n = 12) ou triangular (n = 8), no qual apresenta variação no tamanho destes. O tímpano pode ser distinto (definido como uma depressão na pele, atrás dos olhos e abaixo da crista do osso escamosal) (n = 2) ou indistinto (n = 19). O cordão interocular é descontínuo, leve (n = 9) ou marcadamente curvo (n = 8). O cordão óculo-dorsal é sempre presente, com constrição na região pré-sacral ou não, pode ser contínuo (n = 19) ou descontínuo (n = 8), e os tubérculos que o constituem podem ser curtos, fundidos e alongados ou curtos, arredondados, fundidos e/ou não fundidos. A coloração dorsal varia entre tons de marrom, creme e cinza; quanto a superfície ventral, machos e fêmeas possuem manchas vermiculares ou arredondadas (predominância de círculos pequenos ou grandes), que podem se estender da região gular aos membros ou serem restritas a região abdominal; os machos frequentemente apresentam a região gular escura ou esmaecida. O tubérculo metacarpal interno pode ser oval (n = 26) ou elíptico (n = 1); e os externos podem ser separados (n = 14) ou bífidos (n = 13), com o medial oval (n = 20), elíptico (n = 2) ou arredondado (n = 5), e o distal oval (n = 21), elíptico (n = 6). O tubérculo metatarsal interno pode ser elíptico (n = 13), elíptico curvado e proeminente (n = 10) ou borda alargada (n = 4); e o externo arredondado (n = 24) ou oval (n = 3). Podem apresentar de uma à duas fileiras de tubérculos no antebraço. Observamos cinco variações no comprimento relativo entre os dedos das mãos da seguinte forma: (1) IV < II < I < III (n = 13), (2) II < IV < I < III (n = 4), (3) II < I < IV < III (n = 4), (4) I < IV < II < III (n = 2) e (5) I < II < IV < III (n = 4);

e dos pés: I < II < IV < III < IV. Os ossos escamosais são fusionados, lisos ou rugosos, com ondulações ou não. Os frontoparietais podem ser lisos ou com poucas rugosidades, com expansão leve ou moderada, fundidos ou justapostos com leve separação, com porção anterior não aberta. Os nasais não cobrem o esfenetmóide. O processo cultriforme do parasfenóide é largo na base e na porção distal.

Canto de anúncio – O canto de anúncio de *Proceratophrys intermedia* (Figura 11.3) é composto por uma nota multipulsionada, com uma média de duração do canto de $0,951 \pm 0,121$ s (0,36–1,35 s). O número de pulsos emitido por canto é $47,973 \pm 6,374$ (21-63 pulsos/canto), a taxa de emissão de pulsos por segundo é $50,016 \pm 4,572$ (41,46-62,15 pulsos/segundo), e a média da frequência dominante é $750,358 \pm 67,658$ Hz (562,50–861,33 Hz).

Girino – Não existem dados sobre a morfologia externa do girino de *Proceratophrys intermedia*. O condocrânio da espécie foi descrito por Dias et al. (2013) baseado em girinos coletados nas seguintes localidades: Estado do Paraná, município Fazenda Rio Grande, Fazenda Gralha Azul – DZSJRP 819.3 (1 girino; estágio 35), 830.2 (2 girinos; estágios 35 e 38) e município de São José dos Pinhais, Serro e Gemido – DZSJRP 985.2 (1 girino; estágio 37).

Distribuição geográfica – Ocorre principalmente no bioma Mata Atlântica, no estado de Santa Catarina, Paraná até a região sul do estado de São Paulo, podendo ocorrer em áreas de transição de Cerrado (Figura 1).

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos curadores das coleções (R. Feio - MZUFV, J. Romanzini – MCP-PUCRS, L. Piatti, F.S. Neto e T.R. Sinani - ZUFMS, L.F. Toledo – ZUEC-AMP, UNICAMP e I. A. Martins – CCLZU-UNITAU), aos pesquisadores que forneceram gravações ao banco de dados da Fonoteca Neotropical Jacques Vielliardi – UNICAMP, FONOTROPICA e aos pesquisadores que gentilmente forneceram gravações pessoais para complementação dos dados acústicos, J.V. Lacerda. L. Ugioni, L. Drummond e T. Pezzuti. Agradeço também ao PPGBA (Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal) da UFMS (Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – campus Campo Grande, MS) e a bolsa de estudo proporcionada pela CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior). Agradeço à The Museum of Comparative Zoology at the Harvard University e ao Natural History Museum – London, que permitiram acesso às fotos dos exemplares-tipo de *Proceratophrys fryi* e *Proceratophrys intermedia*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaro, R. C., Rodrigues, M. T., Yonenaga-Yassuda, Y., Carnaval, A. C. (2012). Demographic processes in the montane Atlantic rainforest: Molecular and cytogenetic evidence from the endemic frog *Proceratophrys boiei*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, v. 62, p. 880-888.
- Ávila, R. W., Pansonato, A., & Strüssmann, C. (2012). A new species of *Proceratophrys* (Anura: Cycloramphidae) from midwestern Brazil. *Journal of Herpetology*, 466-472.
- Ávila, R. W., Kawashita-Ribeiro, R. A., & Morais, D. H. (2011). A new species of *Proceratophrys* (Anura: Cycloramphidae) from western Brazil. *Zootaxa*, 2890(1), 20-28.
- Barrio, A., & de Barrio, I. T. M. (1993). Una nueva especie de *Proceratophrys* (Leptodactylidae) del nordeste de Argentina. *Amphibia-Reptilia*, 14(1), 13-18.
- Barbour, T. (1908). Some new reptiles and amphibians. Bulletin of the Museum of Comparative Zoology. Cambridge, Massachusetts 51: 315-325.
- Bokermann, W. C. A. (1966). Lista Anotada das Localidades Tipo de Anfíbios Brasileiros. São Paulo: Serviço de Documentação, Universidade Rural São Paulo.
- Brandão, R. A., Caramaschi, U., Vaz-Silva, W. & Campos, L. A. (2013). Three new species of *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro 1920 from Brazilian Cerrado (Anura, Odontophrynidae). *Zootaxa*, 3750 (4): 321-347.
- Caramaschi, U. (1996). Nova espécie de *Odontophrynus* Reinhardt & Lutken 1862, do Brasil Central (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). *Bolm Mus. Nac.*, Nova Série, Zool., Rio de Janeiro, 367:1-8.
- Carvalho, T. R., Moraes, L. J., Lima, A. P., Fouquet, A., Peloso, P. L., Pavan, D., ... & Haddad, C. F. (2021). Systematics and historical biogeography of Neotropical foam-nesting frogs of the *Adenomera heyeri* clade (Leptodactylidae), with the description of six new Amazonian species. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 191(2), 395-433.
- Cassini, C. S., CRUZ, C. A. G., & Caramaschi, U. (2010). Taxonomic review of *Physalaemus olfersii* (Lichtenstein & Martens, 1856) with revalidation of *Physalaemus lateristriga* (Steindachner, 1864) and description of two new related species (Anura: Leiuperidae). *Zootaxa*, 2491(1), 1-33.
- Correa, C. (2019). Nueva lista comentada de los anfibios de Chile (Amphibia, Anura). *Boletín Chileno de Herpetología*, 6, 1-14.
- Cruz, C. A. G., & Napoli, M. F. (2010). A new species of smooth horned frog, genus *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro (Amphibia: Anura: Cycloramphidae), from the Atlantic Rainforest of eastern Bahia, Brazil.
- Cuvier, G. L. C. F. D. (1829). Le Règne Animal Distribué d'Après son Organisation, pour Servir de Base à l'Histoire Naturelle des Animaux et d'Introduction à l'Anatomie Comparée. Nouvelle Edition, Revue et Augmentée par P.A. Latreille. Volume 2. Paris: Deterville.
- Da Silva, L. A., Magalhaes, F. M., Thomassen, H., Leite, F. S., Garda, A. A., Brandao, R. A., Haddad, C. F. B., Giaretta, A. A. & De Carvalho, T. R. (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), zootaxa-4779.

- Dayrat, B. (2005). Towards integrative taxonomy. *Biological journal of the Linnean society*, 85(3), 407-417.
- De Sá, F. P., Condez, T. H., Lyra, M. L., Haddad, C. F. & Malagoli, L. R. (2022). Unveiling the diversity of Giant Neotropical Torrent frogs (Hylodidae): phylogenetic relationships, morphology, and the description of two new species. *Systematics and Biodiversity*, 20(1), 1-31.
- Dias, P. H., Amaro, R. C., Carvalho-e-Silva, A. M. P. T., Rodrigues, M. T. (2013). Two new species of *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro, 1920 (Anura; Odontophrynidae) from the Atlantic forest, with taxonomic remarks on the genus. *Zootaxa*, 3682 (2): 277–304.
- Dias, P. H. S., Carvalho-e-Silva, A. M. P. T. & Carvalho-e-Silva, S. P. (2013). Larval chondrocranium morphology of five species of *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro (Amphibia; Anura; Odontophrynidae). *Zootaxa*, 3683(4), 427-438.
- Eterovick, P. C., & Sazima, I. (1998). New species of *Proceratophrys* (Anura: Leptodactylidae) from southeastern Brazil. *Copeia*, 159-164.
- Feio, R. N., Napoli, M. F., & Caramaschi, U. (2006). Considerações taxonômicas sobre *Thoropa miliaris* (Spix, 1824), com revalidação e redescrição de *Thoropa taophora* (Miranda-Ribeiro, 1923) (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Arquivos do Museu Nacional*, 64(1), 41-60.
- Firkowski, C. R., Bornschein, M. R., Ribeiro, L. F., & Pie, M. R. (2016). Species delimitation, phylogeny and evolutionary demography of co-distributed, montane frogs in the southern Brazilian Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 100, 345-360.
- Fonseca, E. M., Gehara, M., Werneck, F. P., Lanna, F. M., Colli, G. R., Sites Jr, J. W., Rodrigues, M. T. & Garda, A. A. (2018). Diversification with gene flow and niche divergence in a lizard species along the South American “diagonal of open formations”. *Journal of biogeography*, 45(7), 1688-1700.
- Forti, L. R., Márquez, R., & Bertoluci, J. (2015). Advertisement call of *Dendropsophus microps* (Anura: Hylidae) from two populations from southeastern Brazil. *Zoologia (Curitiba)*, 32(3), 187–194.
- Fouquet, A., Marinho, P., Réjaud, A., Carvalho, T. R., Caminer, M. A., Jansen, M., ... & Ron, S. (2021). Systematics and biogeography of the *Boana albopunctata* species group (Anura, Hylidae), with the description of two new species from Amazonia. *Systematics and Biodiversity*, 19(4), 375-399.
- Frost, D. R. (2022). Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.1 (26 maio, 2022). Electronic Database accessible at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA. doi.org/10.5531/db.vz.0001.
- Gazoni, T., Lyra, M. L., Ron, S. R., Strüssmann, C., Baldo, D., Narimatsu, H., Pansonato, A., Schneider, R. G., Giarretta, A. A., Haddad, C. F. B., Parise-Maltempi, P. P. & Carvalho, T. R. (2021). Revisiting the systematics of the *Leptodactylus melanonotus* group (Anura: Leptodactylidae): Redescription of *L. petersii* and revalidation of its junior synonyms. *Zoologischer Anzeiger*, 290, 117-134.

- Giaretta, A. A., Bernarde, P. S., & Kokubum, M. N. D. C. (2000). A new species of *Proceratophrys* (Anura: Leptodactylidae) from the Amazon rain forest. *Journal of Herpetology*, 173-178.
- Giaretta, A. A., & Sazima, I. (1993). Nova espécie de *Proceratophrys* mir. rib. do sul de Minas Gerais, Brasil (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 53(1), 13-19.
- Glaw, F.; Köhler, J.; De La Riva, I.; Vieites, D. R. & Vences, M. (2010). Integrative taxonomy of malagasy treefrogs: combination of molecular genetics, bioacoustics and comparative morphology reveals twelve additional species of *Boophis*. *Zootaxa*, vol 2383, p. 1-82.
- Godinho, L. B., Moura, M. R., Lacerda, J. V. A., & Feio, R. N. (2013). A new species of *Proceratophrys* (Anura: Odontophrynidae) from the middle São Francisco River, southeastern Brazil. *Salamandra*, 49(2), 63-73.
- Gomes, M.R. & Peixoto, O.L. (1991). Considerações sobre o girino de *Hyla senicula* (Cope, 1868) e *Hyla soaresi* Caramaschi & Jim, 1983. (Amphibia, Anura, Hylidae). *Acta Biologica Leopoldensia*, Brasil, v. 13, p. 5-18.
- Guérin-Ménéville, F.-É. (1838). Iconographie du Règne Animal de G. Cuvier ou Représentation d'Après Nature de l'une des Espèces les plus Remarquables et Souvent non Envoyées Figurees, de Chaque Genre d'Animaux, avec un Texte Descriptif mis au Courant de La Science. Volume 3 (Part—Reptiles). Paris: J. B. Ballière.
- Günther, A. C. L. G. (1873). Contribution to our knowledge of *Ceratophrys* and *Megalophrys*. *Annals and Magazine of Natural History*, Series 4, 11: 417–419.
- Heyer, W.R., Rand, A.S., Cruz, C.A.G. da, Peixoto, O.L., Nelson, C.E. (1990). Frogs of Boracéia. *Arquivos de Zoologia*, 31(4):231-410.
- Hödl, W. (1977). Call differences and calling site segregation in anuran species from Central Amazonian floating meadows. *Oecologia*, 28(4), 351-363.
- Hoogmoed, M.S. (1990). Rediscovery of a type of *Ceratophrys boiei* Wied (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). *Zoologische Mededelingen*, 63:267-273.
- Izecksohn, E., Carvalho-e-Silva, S. P. D., & Deiss, I. (2005). O osteocrânio de *Proceratophrys boiei* (Wied-Neuwied), *P. appendiculata* (Günther), *P. melanopogon* (Miranda-Ribeiro) e *P. laticeps* Izecksohn & Peixoto (Anura, Leptodactylidae). *Revista Brasileira de Zoologia*, 22, 225-229.
- Izecksohn, E., Cruz, C. A. G., & Peixoto, O. L. (1998). Sobre *Proceratophrys appendiculata* e algumas espécies afins (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). *Revista da Universidade Rural, Série Ciências da Vida*, 20(1-2), 37-54.
- Izecksohn, E., & Peixoto, O. L. (1981). Nova espécie de *Proceratophrys*, da Hiléia Bahiana, Brasil (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 41(1), 19-24.
- Jim, J. & Caramaschi, U. (1980). Uma nova espécie de *Odontophrynus* da região de Botucatu, São Paulo, Brasil (Amphibia, Anura). *Revista Brasileira de Biologia* 40(2): 357-360.
- Júnior, F. A. B., Caramaschi, U., & Haddad, C. F. (2004). Review of the *Bufo crucifer* species group, with descriptions of two new related species (Amphibia, Anura, Bufonidae). *Arquivos do Museu Nacional*, 62(3), 255-282.

- Köhler, J., Glaw, F., Pabijan, M. & Vences, M. (2015). Integrative taxonomic revision of mantellid frogs of the genus *Aglyptodactylus* (Anura: Mantellidae). *Zootaxa*, 4006(3), 401-438.
- Köhler, J., Jansen, M., Rodriguez, A., Kok, P. J. R., Toledo, L. F., Emmrich, 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): 001–124.
- Kwet, A., & Faivovich, J. (2001). *Proceratophrys bigibbosa* species group (Anura: Leptodactylidae), with description of a new species. *Copeia*, 2001(1), 203-215.
- Ligges, U., Krey, S., Mersmann, O., Schnackenberg, S. (2018). tuneR: Analysis of Music and Speech. <https://CRAN.R-project.org/package=tuneR>.
- Lynch, J.D. (1971). Evolutionary relationships, osteology and zoogeography of leptodactylid frogs. *Miscellaneous Publication*, Museum of Natural History, University of Kansas, 53:1-238.
- Magalhães, F. D. M., Lyra, M. L., De Carvalho, T. R., Baldo, D., Brusquetti, F., Burella, P., Colli, G. R., Gehara, M. C., Giaretta, A. A., Haddad, C. F. B., Langone, J. A., López, J. A., Napoli, M. F., Santana, D. J., De Sá, R. O. & Garda, A. A. (2020). Taxonomic review of South American Butter Frogs: Phylogeny, geographic patterns, and species delimitation in the *Leptodactylus latrans* species group (Anura: Leptodactylidae). *Herpetological Monographs*, 34(1), 131-177.
- 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.
- Mângia, S., Koroiva, R., Nunes, P. M. S., Roberto, I. J., Ávila, R. W., Sant'anna, A. C., Santana, D. J., Garda, A. A. (2018). A New Species of *Proceratophrys* (Amphibia: Anura: Odontophrynidae) from the Araripe Plateau, Ceará State, Northeastern Brazil. *Herpetologica*, 74(3), 255-268.
- Mângia, S., Magalhães, F. de M., Leite, F. S. F., Cavalheri, D. G. & Garda, A. A. (2022). A New Species of *Proceratophrys* (Anura: Odontophrynidae) from Boqueirão da Onça, Northern Bahia State, Brazil. *Journal of Herpetology*, 56(1), 120-136.
- Mângia, S., Santana, D. J., Cruz, C. A. G. & Feio, R. N. (2014). Taxonomic review of *Proceratophrys melanopogon* (Miranda-Ribeiro, 1926) with description of the four new species (Amphibia, Anura, Odontophrynidae). *Rio de Janeiro, Boletim do Museu Nacional, Zoologia*, n. 531.
- Marcelino, V. R., Haddad, C. F., & Alexandrino, J. (2009). Geographic distribution and morphological variation of striped and nonstriped populations of the Brazilian Atlantic Forest treefrog *Hypsiboas bischoffi* (Anura: Hylidae). *Journal of Herpetology*, 351-361.
- Martins, L. B., & Giaretta, A. A. (2011). A new species of *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro (Amphibia: Anura: Cycloramphidae) from central Brazil. *Zootaxa*, 2880(1), 41-50.
- Martins, L. B., & Giaretta, A. A. (2013). Morphological and acoustic characterization of *Proceratophrys goyana* (Lissamphibia: Anura: Odontophrynidae), with the description of a sympatric and related new species. *Zootaxa*, 3750(4), 301-320.
- 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.

- Miranda-Ribeiro, A. (1920). Algumas considerações sobre o gênero *Ceratophrys* e suas espécies. *Revista do Museu Paulista*, 12:289-304.
- Miranda-Ribeiro, A. (1926). Notas para servirem ao estudo dos Gymnobatrachios (Anura) brasileiros. *Arquivos do Museu Nacional*, 27:1-227.
- Miranda-Ribeiro, A. 1937. Espécies novas do gênero "Stombus" da série de appendices oculares reduzidos. *O Campo*, 8(88):24.
- Müller, F. (1883). Dritter Nachtrag Katalog der herpetologischen Sammlung des Basler Museums. Basel: G. G. Bauer.
- Napoli, M. F., Cruz, C. A. G., Abreu, R. O. D. & Del-Grande, M. L. (2011). A new species of *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro (Amphibia: Anura: Cycloramphidae) from the Chapada Diamantina, State of Bahia, northeastern Brazil.
- Nascimento, F. F., Lazar, A., Menezes, A. N., da Matta Durans, A., Moreira, J. C., Salazar-Bravo, J., Andrea, P. S. & Bonvicino, C. R. (2013). The role of historical barriers in the diversification processes in open vegetation formations during the Miocene/Pliocene using an ancient rodent lineage as a model. *PLoS One*, 8(4), e61924.
- Nascimento, J. S., Abreu, R. O., Menezes, L., Trevisan, C. C., Solé, M., Juncá, F. A. & Napoli, M. F. (2019). The advertisement call of *Proceratophrys minuta* Napoli, Cruz, Abreu, e Del Grande, 2011 (Anura: Odontophrynidae), with comments on acoustic parameters in the genus. *South American Journal of Herpetology*, 14(1), 24-36.
- Oksanen, F., Blanchet, G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P. R., O'Hara, R. B., Simpson, G. L., Solymos, P., Henry, M., Stevens, H., & Wagner, H. (2017) *Vegan: Community Ecology Package*. R package Version 2.4-3. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Orrico, V. G., Nunes, I., Mattedi, C., Fouquet, A., Lemos, A. W., Rivera-Correa, M., Lyra, M. L., Loebmann, D., Pimenta, B. V. S., Caramaschi, U., Rodrigues, M. T. & Haddad, C. F. (2017). Integrative taxonomy supports the existence of two distinct species within *Hypsiboas crepitans* (Anura: Hylidae). *Salamandra*, 53(1), 99-113.
- Ortega-Andrade, H. M. (2008). *Agalychnis spurrelli* Boulenger (Anura, Hylidae): variación, distribución y sinonimia. *Papéis Avulsos de Zoologia*, 48, 103-117.
- Ortega-Andrade, H. M., Rojas-Soto, O. R., de los Monteros, A. E., Valencia, J. H., Read, M., & Ron, S. R. (2017). Revalidation of *Pristimantis brevicrus* (Anura, Craugastoridae) with taxonomic comments on a widespread Amazonian direct-developing frog. *Herpetological Journal*, 27(1).
- Oswald, C.B., Lemes, P., Thomé, M.T.C., Pezzuti, T.L., Santos, F.R., Garcia, P.C.D.A., Leite, F.S.F. and de Magalhães, R.F., 2022. Colonization rather than fragmentation explains the geographical distribution and diversification of treefrogs endemic to Brazilian shield sky islands. *Journal of Biogeography*, 49(4), pp.682-698.
- Padial, J. M., & De la Riva, I. (2009). Integrative taxonomy reveals cryptic Amazonian species of *Pristimantis* (Anura: Strabomantidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 155(1), 97-122.
- Padial, J. M., Miralles, A., De La Riva, I. & Vences, M. (2010). The integrative future of taxonomy. *Frontiers in zoology*, 7(1), 1-14.

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.

Prado, G. M. & Pombal Jr, J. P. (2008). Espécies de *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro, 1920 com apêndices palpebrais (Anura, Cycloramphidae). *Arquivos de Zoologia*, 39(1), 185.

Preininger, D., Bockle, M. & Hödl, W. (2007). Comparison of anuran acoustic communities of two habitat types in the Danum Valley Conservation Area, Sabah, Malaysia. *SALAMANDRA-BONN*, 43(3), 129.

Santana, D. J., Mângia, S., Sacool, S. S. A., & Santos, T. G. (2021). A new species of *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro, 1920 (Anura, Odontophrynidae) of the *P. bigibbosa* species group from Southern Brazil. *Vertebrate Zoology*, 71, 387–401.

Santana, D. J., da Silva, L. A., Sant'Anna, A. C., Shepard, D. B., & Mângia, S. (2021). A new species of *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro, 1920 (Anura, Odontophrynidae) from Southern Amazonia, Brazil. *PeerJ*, 9, e12012.

Santos, D. C. (2011). Estudo taxonômico de *Hypsiboas faber* (wied-neuwied, 1821) (Amphibia, Anura, Hylidae): Integrando evidências. Dissertação de mestrado. Repositório institucional da Universidade Federal da Bahia. Disponível: <http://www.repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/12931>.

Schlick-Steiner, B. C., Steiner, F. M., Seifert, B., Stauffer, C., Christian, E., & Crozier, R. H. (2010). Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring biodiversity. *Annual review of entomology*, 55, 421–438.

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.

Sueur, J., Aubin, T., & Simonis, C. (2008). Equipment review: Seewave, a free modular tool for sound analysis and synthesis. *Bioacoustics*, 18, 213–226. <https://doi.org/10.1080/09524622.2008.9753600>.

Silva, D. de M. e, Cruz, A. D. da, Bastos, R. P., Telles, M. P. de C., & Diniz-Filho, J. A. F. (2008). Morphometric and genetic differentiation among populations of *Eupemphix nattereri* (Amphibia, Anura, Leiuperidae) from central Brazil. *Iheringia. Série Zoologia*, 98(4), 493–500.

Silva, M. J. D., Santos, M. D., Gazoni, T., Cholak, L. R., Haddad, C. F. B., & Parise-Maltempi, P. P. (2021). Cytogenetic approaches provide evidence of a conserved diploid number and cytological differences between *Proceratophrys* species (Anura: Odontophrynidae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 93.

Simões, C. R. M. A., Pontes, B. E. S., Trevisan, C. C., Abreu, R. O., Juncá, F. A., Solé, M., Araújo, C. B., & Napoli, M. F. (2020). The advertisement call of *Proceratophrys redacta* (Anura, Odontophrynidae). *Zootaxa*, 4750(3), 447–450.

Tang, Y., Horikoshi, M., & Li, W. (2016). "ggfortify: Unified Interface to Visualize Statistical Result of Popular R Packages." *The R Journal*, 8(2), 474–485. doi:10.32614/RJ-2016-060, <https://doi.org/10.32614/RJ-2016-060>.

Taucce, P. P., Costa-Campos, C. E., Haddad, C. F., & De Carvalho, T. R. (2020). A New Amazonian Species of the Diminutive Frog Genus *Adelophryne* (Anura: Brachycephaloidea: Eleutherodactylidae) from the State of Amapá, Northern Brazil. *Copeia*, 108(4), 746–757.

- Taylor, W. R. & Van Dyke, G. C. (1985). Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybium (Paris)*, 9(2), 107-119.
- Teixeira Jr., M., Amaro, R. C., Recorder, R. S., Dal Vecchio, F. & Rodrigues, M. T. (2012). A new dwarf species of *Proceratophrys* Miranda-Ribeiro, 1920 (Anura, Cycloramphidae) from the highlands of Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. *Zootaxa*, 3551(1), 25-42.
- Werneck, F. P., Leite, R. N., Geurgas, S. R., & Rodrigues, M. T. (2015). Biogeographic history and cryptic diversity of saxicolous Tropicoduridae lizards endemic to the semiarid Caatinga. *BMC Evolutionary Biology*, 15(1), 94.
- Weygoldt, P., & Peixoto, O. L. (1985). A new species of horned toad (*Proceratophrys*) from Espírito Santo, Brazil (Amphibia: Salientia: Leptodactylidae). *Senckenbergiana biologica*, 66(1-3), 1-8.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4, <https://ggplot2.tidyverse.org>.
- Wied-Neuwied, M.A.P. (1824). Verzeichnis der Amphibien welche in zweiten Bande der Naturgeschichte Brasiliens von Prinx Max von Wied Beschrieben Werden. *Isis von Oken*, 14:661-673.
- Wied-Neuwied, M.A.P (1825). Beiträge zur Naturgeschichte von Brasiliens. Landes-Industrie-Comptoirs, Weimar, v. 1, 614p.

APÊNDICE I

Espécimes examinados

Proceratophrys fryi - NORTE 1: ESPÍRITO SANTO: Ibitirama, Pedra Roxa (Caparaó): ZUEC-AMP 23621; MINAS GERAIS: Alto Caparaó, Parque Nacional do Caparaó: ZUEC-AMP 23575; Barão de Monte Alto: MZUFV 15767, 15769; Cataguases, Sinimbu: MZUFV 17591, 18084, 19620, 19622; Cataguases, Estação Ecológica de Água Limpa: MZUFV 13202, 13204; Cataguases, Horto – Estação Ecológica de Água Limpa: MZUFV 12202; Cataguases, B. Tomé: MZUFV 6049; Divino, Árvore Bonita: MZUFV 17073, 17081, 17111, 17116; Divino, Árvore Bonita: ZUFMS 5651, 5666, 5680; Divino, Fortaleza: MZUFV 17092; Ervália, Serra do Brigadeiro: (MAP 7789, 7790, 7791, 7792, 7793, 7795, 7796); Ipanema, PHC Areia Branca (AS4): MZUFV 8007; Ipanema, Santa Constância: MZUFV 6828; Mirai, APA Água Limpa (mata): MZUFV 13280; Mirai, APA Água Limpa (borda): MZUFV 13304, 13305; Mirai, APA Água Limpa (brejo): MZUFV 13295; Mirai, Área de Mata: MZUFV 13292, 13293; Ouro Preto, FLOE Uaimi: MZUFV 9661; Ouro Preto, Tripu: MZUFV 2334; Ritópolis, Flona: MZUFV 19058, 19060, 19057, 19062, 19067; Santa Bárbara do Monte Verde, Parque Estadual Serra Negra da Mantiqueira: (MAP 7749, 7750); Viçosa, Mata da Biologia: MZUFV 3621, 5811; Viçosa, Mata do Paraíso: MZUFV 7250, 7133.

Proceratophrys boiei - NORTE 2: SUL DE MINAS GERAIS: Cristina: CCLZU 1477, 1478, 1479, 1605, 1606; Cristina, Brejinho: CCLZU 3140; Cristina, Mata da Prefeitura: CCLZU 1598, 1996, 2002, 2032, 2033, 2207, 2208, 2467, 2955; NORTE DE SÃO PAULO: Atibaia, Parque Municipal da Grota Funda: ZUEC-AMP 23975, 23974, 23976; Bananal, Estação Ecológica Bananal: ZUEC-AMP 25197, 25196; Caçapava: CCLZU 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415; Campinas, Mata de Santa Genebra: ZUEC-AMP 18736; São Francisco Xavier: ZUEC-AMP 24844; São José dos Campos, Parque Municipal Augusto Ruschi: ZUEC-AMP 23307; Santo Antônio do Pinhal: CCLZU 827, 828, 829, 830, 831, 1109, 1110, 1295, 1474, 1475; São Luiz do Paraitinga, Bairro Bom Retiro: ZUEC-AMP 19296, 19286; São Luiz do Paraitinga, Bairro Pantheon: ZUEC-AMP 19279, 19281, 19280, 19277, 19278; São Luiz do Paraitinga, Fragment N° 1: ZUEC-AMP 22834, 22835; São Luiz do Paraitinga, Parque Estadual Serra do Mar, Núcleo de Santa Virgínia: ZUEC-AMP 23042, 23041; RIO DE JANEIRO: Nova Friburgo: IVBA 211, 266.

Proceratophrys intermedia - SUL: PARANÁ: Fazenda Rio Grande: MCP 10333; Guaratuba: MCP 7635, 7634; SANTA CATARINA: Araquari, Itapocu: ARA 13, 14; Blumenau: BLU 001; Florianópolis: MCP 6409, 6355; Jaraguá do Sul: MCP 8151; Lauro Müller: MCP 8135, 8136, 12319; Pedras Grandes: AZB 05, 06; Pedras Grandes, Azambuja: AZB 07, 08; São Bento do Sul: MCP 11137, 11138; SÃO PAULO: São Paulo, Parque Natural Jaceguava: ZUEC-AMP 20532, 20533; SUL DE SÃO PAULO: Apiaí: ZUEC-AMP 4754, 4755; Iporanga, Reserva Betary: ZUEC-AMP 20177, 20176; Ribeirão Grande: ZUEC-AMP 20552.

APÊNDICE II

Gravações do canto de anúncio

Proceratophrys fryi - NORTE 1: ESPÍRITO SANTO: Ibitirama: FNJV_0033213; Santa Teresa: sound 2-1-xi-2012; MINAS GERAIS: Alto Caparaó: FNJV_0033266; Congonhas: CSN: Mascate01112008, 01112008 (2); Divino: JVAL_0274; Itabira: Ipoema: 11112009, 11112009 (2); Viçosa: FNJV_0031314.

Proceratophrys boiei - NORTE 2: MINAS GERAIS: CRISTINA: *P. boiei*1; Munhoz: FNJV_0031310; RIO DE JANEIRO: Engenheiro Paulo de Frontin: FNJV_0044147; Rio de Janeiro: FNJV_0031906; Teresópolis: FNJV_0031317; SÃO PAULO: Salesópolis: FNJV_0033758; São José dos Campos: FNJV_0034249, 0044985, 004986.

Proceratophrys intermedia - SUL: PARANÁ: Morretes: FNJV_0031312; Palmeira: FNJV_0045258; Ponta Grossa: FNJV_0033569; RPPN Salto Morato: JVAL 0190; SANTA CATARINA: Araquari, Itapocu: ARA 13, 14; Pedras Grandes: 1; Pedras Grandes: Azambuja: AZB 07, 08; São Bonifácio, PE Tabuleiro: TASCAM_0376, 0377; SÃO PAULO: Ilha do Cardoso: FNJV_0012953, 0012954; Iporanga: FNJV_0040855; Ribeirão Grande: FNJV_0032520; Ribeirão Grande, Parque Estadual de Intervales: FT_00184, 00185 ind 2a; São Roque: FNJV_0040428.

APÊNDICE III

Protocolo adaptado de Taylor & Van Dyke (1985)

Passo 1: Tirar fotos do espécime. Nº de identificação, dorso, ventre, cabeça, mãos e pés.

Passo 2: Remover toda a pele.

Passo 3: Fazer corte em "U" na região da barriga. TENHA MUITO CUIDADO.

Passo 4: Remover órgãos.

Passo 5: Abrir estômago e analisar o conteúdo estomacal.

Passo 6: Colocar de **12 a 24 horas** em álcool absoluto. Auxilia na desidratação do organismo.

Passo 7: **Alcian Blue**. Coloração da cartilagem. Deixar no alcian blue por **24 horas**.

Preparando a solução:

- 35% de ácido acético glacial.
- 65% de álcool absoluto.
- 20 mg de pó de alcian blue ~ uma raspa de colher de café (se atentar a cor).

Passo 8: Preparar solução de KOH:

- 100 ml de água destilada.

- 2 pastilhas de KOH.

Passo 9: Despigmentação. Pegar folha A4 e colocar ao redor do pote e iluminar por ~ 3 horas.

- 20% de H₂O₂.
- 80% de solução de KOH.

Passo 10: Solução saturada de tetraborato de sódio (bórax).

- Água destilada.
- Tetraborato de sódio (1/2 colher de café).

Solução tampão.

- 7 partes de água destilada.
- 3 partes de solução saturada de tetraborato de sódio (bórax).

Ex: Se quero preparar 100 ml, serão 70% de água destilada e 30% de solução saturada.

Passo 11: Solução digestiva. Promove a digestão dos músculos e gorduras.

- Solução tampão.
- 1g de tripsina.

Passo 12: Estufa. Levar para estufa numa temperatura superior a 30°C e inferior a 40°C.

Acompanhamento rígido. Olhar com frequência como está o processo.

Passo 13: Solução aquosa de KOH 1,5%:

- Água destilada.
- 1,5% KOH.

Ex: Se quero preparar 1000 ml, irá calcular para 1,5%.

Preparar solução de alizarina:

- Solução aquosa de KOH 1,5%.
- Alizarina, colocar em pouquíssima quantidade (pegar com pinça).

Passo 14: Colocar espécime na alizarina.

Passo 15: Solução aquosa de KOH 1%:

- Água destilada.
- 1% KOH (mesmo exemplo para KOH 1,5%).

Colocar espécime na glicerina 40%:

- 60% solução aquosa KOH 1%.
- 40% glicerina.

Passo 16: Colocar espécime na glicerina 70%:

- 30% solução aquosa KOH 1%.

- 70% glicerina.

Passo 17: Colocar espécime na glicerina 100%:

- 100% glicerina.