

Bárbara Fernandes Zaidan

**Sistemática Filogenética de *Physalaemus*
Fitzinger (Anura: Leptodactylidae)
combinando dados moleculares e morfológicos**



**BELO HORIZONTE
2019**

Capa: Aparato hiolaringeal de *Physalaemus signifer* (UFMG 4961)



Universidade Federal de Minas Gerais
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Zoologia



Sistemática Filogenética de *Physalaemus* Fitzinger (Anura: Leptodactylidae) combinando dados moleculares e morfológicos

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zoologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Zoologia.

Orientador: Dr. Paulo Christiano de Anchieta Garcia

BELO HORIZONTE

2019

- 043 Zaidan, Bárbara Fernandes.
Sistemática Filogenética de *Physalaemus* Fitzinger (Anura: Leptodactylidae) combinando dados moleculares e morfológicos [manuscrito] / Bárbara Fernandes Zaidan. - 2019.
- 167 f. : il. ; 29,5 cm.
- Orientador: Dr. Paulo Christiano de Anchieta Garcia.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Zoologia.
1. Zoologia - Teses. 2. Filogenia. 3. Leptodactylidae - Teses. 4. Morfologia (Animais). I. Garcia, Paulo Christiano de Anchieta. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. III. Título.
- CDU: 591

Ficha elaborada pela Biblioteca do Instituto de Ciências Biológicas da UFMG



ATA DE DEFESA DE TESE DE DOUTORADO

Bárbara Fernandes Zaidan

Ao segundo dia do mês de outubro do ano de dois mil e dezenove, às quatorze horas, na Universidade Federal de Minas Gerais, teve lugar a defesa de Doutorado da Pós-Graduação em Zoologia, de autoria da Doutoranda Bárbara Fernandes Zaidan intitulada: "**Sistemática filogenética de *Physalaemus Fitzinger (Anura: Leptodactylidae)* utilizando dados moleculares e morfológicos**". Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Dr. Paulo Christiano de Anchieta Garcia, após dar a conhecer aos presentes o teor das Normas Regulamentares do Trabalho Final, passou a palavra para a candidata para apresentação de seu trabalho.

Esteve presente a Banca Examinadora composta pelos membros: Fernando Araújo Perini, Hélio Ricardo da Silva, Luciana Bolsoni Lourenço, Rachel Montesinos Martins Pereira, e demais convidados. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa da candidata.

Após a arguição, apenas os Srs. Examinadores permaneceram na sala para avaliação e deliberação acerca do resultado final, a saber: o trabalho foi:

- Aprovado sem alterações
 Aprovado com alterações (observações em anexo)
 Reprovado

Nada mais havendo a tratar, o Presidente da Comissão encerrou a reunião e lavrou a presente ata, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora.

Belo Horizonte, 02 de outubro de 2019.

Comissão Examinadora	Assinatura
Prof. Dr. Fernando Araújo Perini	
Prof. Dr. Hélio Ricardo da Silva	
Profa. Dra. Luciana Bolsoni Lourenço	
Prof. Dr. Paulo Christiano de Anchieta Garcia (Orientador)	
Profa. Dra. Rachel Montesinos Martins Pereira	

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que participaram e contribuíram de alguma forma para que esse trabalho fosse possível.

Ao meu orientador, Dr. Paulo Garcia, por ter aceitado o desafio.

À CAPES, pelos 36 meses de bolsa.

Aos curadores das coleções e colaboradores, que cederam grande parte do material utilizado na tese, tornando este trabalho possível mesmo em um momento de recursos tão escassos. Obrigada, Célio Haddad e Nadya Pupin (CFBH), Claudio Nicoletti (INMA), Julián Faivovich e Santiago Nenda (MACN), Luís Felipe Toledo (ZUEC).

À Luciana Bolsoni Lourenço, pelas sequências moleculares gentilmente cedidas.

À Rachel Montesinos, pelas enriquecedoras discussões sobre caracteres, ajuda com análises e por sempre aparecer com uma palavra amiga de apoio quando precisei.

Ao Igor pela ajuda com a remoção da pele de diversos exemplares e principalmente por ser meu maior companheiro de discussões filosóficas sobre sistemática, codificação de caracteres e anatomia. Sua paixão por morfologia é inspiradora!

Ao Rafael Mol por me ajudar com a troca de soluções nos dias que não pude comparecer ao laboratório e pela valiosa ajuda com as referências. E pelos brownies.

Aos colegas de laboratório: Carol, Dani, Igor, Fifi, Rafael, Henrique, Rachel, Johnny, Prezza, Raíla, Mol, Samuel, Jean, Brenda por tornarem essa jornada tão mais leve e divertida. Como vocês fazem falta!

À Carol Oswald por ter sido minha companheira de representação discente, de chororô, de fofocas e de alegrias.

Ao Rafael Magalhães, pelos ótimos conselhos, explicações e pela cópia do office e pelos lanches que salvaram minha vida!

Ao Callithra, Pedrão e Prezza (loja maravilhoja), por toda a ajuda intelectual e apoio emocional.

Ao Johnny, por ser uma inspiração do que ser quando crescer. Obrigada pelas ótimas discussões, dicas e pela calma inabalável.

Ao Felipe de Freitas, por ter me apoiado e me dado condições de sobreviver ao período sem bolsa do doutorado. Melhor companheiro de viagens!

Aos meus amigos da vida, pelo apoio incondicional. A vida sem vocês seria triste. Agradecimento especial à Vero, por ter acompanhado meus dramas desde o começo e sempre ter me dado um ombro amigo e uma palavra amorosa de apoio. À Fer, que é uma pessoa maravilhosa, com uma sensibilidade ímpar. À Marla por ser uma amiga e confidente tão especial de áudios de 7 minutos. Ao Zé por toda a companhia e por entender a ausência (“não vou nem te convidar pra não te tentar”). À Carina, pelo carinho. Aos melhores-amigos-vizinhos, Mayra e Vivi Pepê, que são sempre companhias excelentes e me cederam tantas vezes ombros e ouvidos. À turma do Gartic, Lelets, Tampa, Vezão, Rafa, Ello, Pannain, Pepelli, André, por ser um lugar de apoio incondicional, para partilhar alegrias e derrotas. À turminha Boca de Leite, Paloma, Mário, Joel, Henrique, Marla, Zé, Mayra, Lívio, Pedro, a melhor fonte de informações, zoeira séria, e stickers.

À galera da bio, por proporcionar momentos maravilhosos, e por me ensinar que eu sou ótima do jeitinho que eu sou. Em especial à Isa, Natashinha, Tânia (companheirassas!), Bocão, Daniel, Bernardinho Zé Lelé, Fazza, Livi, Jarbas e Totas. Vocês são incríveis!

Ao Cristiano Loureiro e Lucas Pannain pelas dicas valiosas de Photoshop e Illustrator. Pannain, obrigada por sempre atender imediatamente aos meus chamados desesperados.

À Bianca Berneck e Marcus Thadeu Santos pela excelente companhia de campo e colaborações.

À Camilla Queiroz, pela ajuda com questões da coleção, e pela boa vontade e disponibilidade. Também a todos os estagiários da coleção Herpetológica da UFMG, por toda ajuda.

Aos meus pais, que nunca deixaram que nada faltasse. Sem esse apoio não conseguiria chegar onde cheguei.

À minha querida irmã e amiga, que gerou o serzinho mais incrível do planeta.

A toda minha querida família.

À Bárbara Faleiro, por ser uma amiga incrível. Sempre companheira e com uma boa vontade incomparável.

Ao George Harrison, meu companheiro de aventuras, que nunca permitiu que me sentisse sozinha. À Sabrina e ao Rogério, por serem os seres mais amassáveis do mundo!

Ao Darrel Frost e colaboradores, pelo site incrível de compilação de dados.

À Alexandra Elkabyan, ao Aaron Swartz e a todos aqueles que dedicaram a vida para que a ciência e a informação fossem acessíveis a todos.

RESUMO

Physalaemus é um gênero neotropical de Leptodactylidae composto por 48 espécies, sendo o maior da subfamília Leiuperinae. Recentemente, a primeira análise filogenética foi realizada para testar as relações entre as espécies do gênero, usando apenas dados moleculares. O presente estudo foi desenvolvido para revisar a sistemática de *Physalaemus* através de uma análise de evidência total com o maior número possível de espécies, acrescentando caracteres morfológicos potencialmente informativos aos clados inferidos. Além disso, avaliar os efeitos da adição de caracteres fenotípicos em uma análise com caracteres predominantemente moleculares, e investigar a história evolutiva de alguns caracteres morfológicos. Minha análise de evidência total incluiu 200 caracteres morfológicos e dados moleculares de genes mitocondriais e nucleares para 39 espécies descritas e uma nova espécie de *Physalaemus*, 7 de outros Leiuperinae, representando todos os demais gêneros dessa subfamília, e 10 espécies das outras subfamílias de Leptodactylidae. Duas análises foram realizadas para atingir os objetivos principais, uma utilizando apenas dados moleculares e outra concatenando os dados moleculares e morfológicos (análise de evidência total), ambas sob os mesmos parâmetros, utilizando o critério de Máxima Parcimônia. Todos os grupos de *Physalaemus* propostos por Lourenço *et al.* (2015) foram recuperados com alto suporte em ambas as análises. Os dados morfológicos melhoraram a resolução de vários clados, uma vez que a árvore de consenso estrito da análise utilizando apenas dados moleculares apresentou mais politomias quando comparada à árvore de consenso estrito da análise de Evidência Total, e sinapomorfias morfológicas foram encontradas suportando todos os clados recuperados. As relações entre os grupos de espécies de *Physalaemus* ainda necessitam elucidação.

ABSTRACT

Physalaemus is a Neotropical genus of Leptodactylidae composed by 48 species, being the largest genera in the subfamily Leiuperinae. Recently, the first phylogenetic analysis was performed to test the relationships among the species within the genus, using only molecular data. The present study was designed to review the systematics of *Physalaemus*, by performing a total evidence analysis representing as many species as possible, adding to the inferred clades potentially informative morphological characters. Also, to evaluate the effects of the addition of phenotypic characters in an analysis with predominantly molecular characters, and investigate the evolutionary history of some morphological characters. My total evidence analysis included 200 morphological characters and molecular data from mitochondrial and nuclear genes for 39 described species and one new species of *Physalaemus*, 7 of other Leiuperinae, representing all the remaining genus of this subfamily, and 10 species of the other Leptodactylidae subfamilies. Two analyses were performed in order to accomplish the main goals, one using only molecular data and another concatenating the molecular and morphological data (total evidence analysis), both under the same parameters with the Maximum Parsimony criterion. All of the groups proposed by Lourenço *et al.* (2015) were recovered with high support in both analyses. The morphological data improved the resolution of several clades, as the strict consensus tree from the analysis using only molecular data presented more polytomies when compared to the the strict consensus tree of the Total Evidence analysis, and several morphological synapomorphies supported all recovered clades. Although, the relationships among the *Physalaemus* groups of species remain to be elucidated.

SUMÁRIO

RESUMO	IX
ABSTRACT	X
Lista de Figuras	XI
CAPÍTULO 1 - Sistemática Filogenética de <i>Physalaemus</i> Fitzinger (Anura: Leptodactylidae) combinando dados moleculares e morfológicos	
INTRODUÇÃO	1
HISTÓRICO TAXONÔMICO DE LEPTODACTYLIDAE	3
<i>Physalaemus</i> Fitzinger.....	4
OBJETIVOS	5
MATERIAL E MÉTODOS	7
SELEÇÃO DE TÁXONS	7
Grupo interno.....	7
Grupo externo	8
AMOSTRAGEM DE CARACTERES MORFOLÓGICOS	9
AMOSTRAGEM DE CARACTERES MOLECULARES	10
ANÁLISES FILOGENÉTICAS	11
RESULTADOS	13
CONCLUSÕES	18
REFERÊNCIAS	19
APÊNDICE I: Lista de espécimes analisados	28
APÊNDICE II: Números de acesso do GenBank	38

CAPÍTULO 1

Sistemática Filogenética de *Physalaemus* Fitzinger (Anura: Leptodactylidae) combinando dados moleculares e morfológicos

INTRODUÇÃO

Leptodactylidae Werner é uma família de anfíbios anuros distribuída em toda região neotropical (Frost 2019). Atualmente, é composta por três subfamílias: Leptodactylinae, Leiuperinae e Paratelmatobiinae (sensu Pyron & Wiens 2011). Leiuperinae é um grupo neotropical, composto pelos gêneros *Edalorhina* Jimenez de la Espada, *Engystomops* Jimenez de la Espada, *Physalaemus* Fitzinger, *Pleurodema* Tschudi e *Pseudopaludicola* Miranda-Ribeiro (sensu Pyron & Wiens 2011). A subfamília compreende 99 espécies de rãs de pequeno tamanho, com pelo menos quatro modos reprodutivos, sendo os ninhos de espuma utilizados por todas as espécies de *Edalorhina*, *Engystomops* e *Physalaemus* conhecidas até o momento (Grosso *et al.* 2019). *Physalaemus* é o gênero com maior número de espécies da subfamília, com 48 espécies distribuídas em toda a América do Sul (Frost 2019).

A taxonomia da família têm sofrido diversas mudanças nas últimas décadas à luz de recentes análises filogenéticas, sobretudo com dados moleculares (Frost *et al.* 2006, Grant *et al.* 2006, Pyron & Wiens 2011, Faivovich *et al.* 2012, Fouquet *et al.* 2013, de Sá *et al.* 2014, Lourenço *et al.* 2015), e um breve histórico taxonômico da família Leptodactylidae e do gênero *Physalaemus* são apresentados a seguir.

HISTÓRICO TAXONÔMICO DE LEPTODACTYLIDAE

Lynch (1971) foi o primeiro a apresentar uma revisão sistemática ampla da família Leptodactylidae, utilizando caracteres externos e internos de morfologia, além de

algumas características ecológicas e comportamentais de espécies de todos os gêneros até então alocados na família. Ele reconheceu quatro subfamílias neotropicais: Ceratophrynae, Elosiinae, Leptodactylinae e Telmatobiinae. A subfamília Leptodactylinae agrupou dez gêneros: *Barycholos* Heyer, *Edalorhina*, *Hydrolaetare* Gallardo, *Leptodactylus* Fitzinger, *Limnomedusa* Fitzinger, *Lithodytes* Fitzinger, *Paratelmatoobius* Lutz & Carvalho, *Physalaemus*, *Pleurodema* e *Pseudopaludicola*.

Heyer (1975), em sua análise sobre as relações filogenéticas de Leptodactylidae, reforçou os agrupamentos internos em Leptodactylinae proposto por Lynch (1971), adicionando à subfamília, os gêneros *Adenomera* Steindachner e *Vanzolinius* Heyer. Ainda, o autor retirou *Barycholos* da subfamília e o realocou para Eleutherodactylinae, e considerou *Paratelmatoobius* como pertencente aos Grypscines, tribo que abrigava dez gêneros de riacho do sul do Brasil: *Craspedoglossa* Santae-Catharinae Müller, *Crossodactylodes* Cochran, *Crossodactylus* Duméril & Bibron, *Cycloramphus* Tschudi, *Hylodes* Fitzinger, *Megaelosia* Miranda-Ribeiro, *Paratelmatoobius*, *Scythrophrys* Lynch, *Thoropa* Cope e *Zachaenus* Cope. Nesse estudo, 5 espécies de *Physalaemus* foram analisadas e o gênero foi considerado monofilético, tendo como grupo irmão *Pleurodema* ou *Pseudopaludicola*.

Em tempos mais recentes, Frost *et al.* (2006) analisou as relações de Leptodactylidae combinando os caracteres anatômicos comparativos, principalmente larvais, levantados por Haas (2003) com sequências moleculares. Nesse estudo, encontraram a família Leptodactylidae parafilética e polifilética em relação a todos os táxons de Hyloidea, exceto Heleophrynidae Noble e Sooglossidae Noble. Então, restringiram a família Leptodactylidae a onze gêneros: *Edalorhina*, *Engystomops*,

Eupemphix Steindachner, *Hydrolaetare*, *Leptodactylus* (considerando *Adenomera*, *Lithodytes* e *Vanzolinius* como sinônimos de *Leptodactylus*), *Paratelmatoobius*, *Physalaemus*, *Pleurodema*, *Pseudopaludicola*, *Scythrophrys* e *Somuncuria* Lynch, tendo como grupo-irmão a família Centrolenidae. Posteriormente, Grant *et al.* (2006) particionaram a família Leptodactylidae, como proposta por Frost *et al.* (2006), em Leptodactylidae e Leiuperidae, ficando a primeira restrita a apenas quatro gêneros (*Hydrolaetare*, *Leptodactylus*, *Paratelmatoobius* e *Scythrophrys*), sendo os demais alocados na família Leiuperidae, recém-proposta.

Pyron & Wiens (2011), em uma análise molecular, encontraram Leptodactylidae parafilética em relação a Leiuperidae, já que *Paratelmatoobius* e *Scythrophrys* foram recuperados mais proximamente relacionados aos leiuperídeos que aos leptodactilídeos. Para resolver o problema taxonômico, os autores expandiram a família Leptodactylidae para incluir novamente todos os leiuperídeos, reconhecendo três subfamílias de Leptodactylidae: Leptodactylinae, agrupando os gêneros *Adenomera*, *Leptodactylus*, *Lithodytes* e *Hydrolaetare*; Leiuperinae, agrupando os gêneros *Eladorhina*, *Engystomops*, *Eupemphix*, *Physalaemus*, *Pleurodema* e *Pseudopaludicola*, e Paratelmatoobiinae, para agrupar *Paratelmatoobius* e *Scythrophrys*. Este agrupamento foi reforçado por Fouquet *et al.* (2013), que incluíram, ainda, os gêneros *Rupirana* Heyer e *Crossodactylodes* Cochran na subfamília Paratelmatoobiinae.

***Physalaemus* Fitzinger**

Lynch (1970), reuniu os gêneros *Engystomops* e *Eupemphix* em *Physalaemus*, reconhecendo quatro grupos de espécies baseados caracteres morfológicos externos e osteológicos: **grupo de *Physalaemus biligonigerus***, composto por *P. biligonigerus*

(Cope), *P. fuscomaculatus* (Steindachner) (atualmente sinônimo de *P. marmoratus*) (Reinhardt & Lütken), *P. nattereri* (Steindachner) e *P. santafecinus* Barrio, com um maior tamanho em relação às demais espécies desse gênero, pele lisa a levemente granulosa, primeiro dedo da mão não mais longo que o segundo, tubérculo tarsal interno não alongado, tubérculos metatarsais comprimidos e dilatados, glândulas inguinais distintas em formato de disco, glândulas parotoides ausentes e dentes pré-maxilares e maxilares presentes (exceto em *P. nattereri*); **grupo de *P. pustulosus***, composto por *P. freibergi* (Donoso-Barros), *P. petersi* Jiménez de la Espada, *P. pustulosus* (Cope), com tamanho moderado, pele tuberculada, primeiro dedo da mão mais longo que o segundo, tubérculo tarsal interno alongado exceto *P. freibergi*, e *P. pustulosus*), tubérculo metatarsal pequeno não comprimido, glândulas inguinais ausentes, glândulas parotoides proeminentes e glândulas no flanco presentes, dentes maxilares e pré-maxilares presentes (exceto em *P. pustulatus*); **grupo de *P. signifer*** composto por *P. maculiventris* (Lutz), *P. nanus* (Boulenger), *P. obtectus* Bokermann, *P. olfersii* (Lichtenstein & Martens) e *P. signifer* (Girard), com tamanho pequeno a moderado, pele lisa, primeiro dedo da mão mais longo que o segundo, sem tubérculo metatarsal interno, glândulas inguinais pequenas a grandes, glândulas parotoides ausentes, dentes maxilares e pré-maxilares ausentes; **grupo de *P. cuvieri***, composto por *P. aguirrei* Bokermann, *P. albifrons* (Spix), *P. albonotatus* (Steindachner), *P. barrioi* Bokermann, *P. centralis* Bokermann, *P. cicada* Bokermann, *P. cuvieri* Fitzinger, *P. ephippifer* (Steindachner), *P. evangelistai*, *P. fernandezae*, *P. esenefae* (sinônimo de *P. fischeri* (Boulenger)), *P. gracilis* (Boulenger), *P. henselii* (Peters), *P. kroyeri* (Reinhardt & Lütke), *P. jordanensis* Bokermann, *P. riograndensis* Milstead, *P. soaresi* Izecksohn e *P. ternetzi* Miranda-Ribeiro, caracterizado por tamanho pequeno a moderado, corpo liso a verrugoso, primeiro dedo da mão menor que o segundo,

tubérculo metatarsal interno presente, tubérculo metatarsal pequeno não-comprimido (exceto em *P. albifrons*), glândulas inguinais presentes ou ausentes (exceto *P. aguirrei*, que possui glândulas inguinais desenvolvidas), glândulas parotóides ausentes, e presença de dentes maxilares e pré-maxilares. Apesar da divisão proposta, Lynch (1970) ressaltou que o arranjo de algumas espécies nesses grupos tornava-os heterogêneos em certo nível. Cannatella & Duellman (1984) revisaram o grupo de *Physalaemus pustulosus*, incluindo quatro espécies e definiram-no por quatro caracteres: presença de glândulas parotóides, glândulas elípticas no flanco, pele verrugosa e processo dentífero no vômer. Tárano & Ryan (2002) comentam que análises preliminares de *Physalaemus* sugeriram que o gênero *Physalaemus* consistiria em dois grupos monofiléticos, o grupo de *P. pustulosus* e um clado com todas as demais espécies do gênero. Considerando a necessidade revisão dos grupos de espécies de *Physalaemus*, além da inclusão de diversas espécies descritas e redescritas, Nascimento *et al.* 2005 realizaram uma revisão taxonômica fenética do gênero, utilizando caracteres de morfometria, morfologia externa, e osteologia. A partir de suas análises, propuseram a revalidação dos gêneros *Engystomops*, para agrupar as espécies do grupo de *Physalaemus pustulosus*, e *Eupemphix* para acomodar a espécie *E. nattereri*, além de redefinirem a divisão do gênero em sete grupos: **grupo de *P. cuvieri*** (com nove espécies: *P. albonotatus*, *P. centralis*, *P. cicada*, *P. cuqui*, *P. cuvieri*, *P. ephippifer*, *P. erikae* Cruz & Pimenta, *P. fischeri*, e *P. kroyeri*); **grupo de *P. signifer*** (com dez espécies: *P. atlanticus* Haddad & Sazima, *P. bokermanni* Cardoso & Haddad, *P. caete* Pombal & Madureira, *P. crombiei* Heyer & Wolf, *P. maculiventris*, *P. moreirae* (Miranda-Ribeiro), *P. nanus*, *P. obtectus*, *P. signifer*, e *P. spiniger* (Miranda-Ribeiro)); **grupo de *P. albifrons*** (com quatro espécies: *P. albifrons*, *P. biligonigerus*, *P. fuscomaculatus* (= *P. marmoratus*), e *P. santafecinus*); **grupo de *P. deimaticus*** (com três

espécies: *P. erythros* Caramaschi, Feio & Guimarães-Neto, *P. deimaticus* Sazima & Caramaschi, 1988, e *P. rupestris* Caramaschi, Carcerelli & Feio, 1991); **grupo de *P. gracilis*** (com cinco espécies: *P. barrioi*, *P. evangelistai*, *P. gracilis*, *P. jordanensis*, e *P. lisei* (Braun & Braun); **grupo de *P. henselii*** (com três espécies: *P. fernandezae*, *P. henselii*, e *P. riograndensis* e **grupo de *P. olfersii*** (com quatro espécies: *P. aguirrei*, *P. maximus* Feio, Pombal & Caramaschi, *P. olfersii*, e *P. soaresi*). Faivovich *et al.* 2012, em uma análise desenhada para testar as relações internas em *Pleurodema*, consideraram *Eupemphix* sinônimo júnior de *Physalaemus*.

Recentemente, Lourenço *et al.* (2015) fizeram, pela primeira vez, uma extensa análise das relações filogenéticas dentro do gênero *Physalaemus*, utilizando caracteres moleculares. Nesse trabalho, reconheceram dois grandes clados: o clado de *Physalaemus signifer*, e o clado de *P. cuvieri*. O clado de *Physalaemus signifer*, contendo as espécies: *P. atlanticus*, *P. bokermanni*, *P. cacaman*, *P. crombiei*, *P. deimaticus*, *P. erythros*, *P. maculiventris*, *P. moreirae*, *P. nanus*, *P. obtectus*, *P. rupestris*, *P. signifer*, *P. spiniger*, e ainda, *P. nattereri*. O clado de *Physalaemus cuvieri* foi recuperado com baixo suporte, incluindo todas as demais espécies, divididas em cinco grupos: o grupo de *P. biligonigerus*, grupo de *P. cuvieri*, grupo de *P. henselii*, grupo de *P. gracilis* e grupo de *P. olfersii*. O grupo de *Physalaemus gracilis* foi idêntico ao proposto por Nascimento *et al.*, 2005. O grupo *Physalaemus henselii* composto por *P. fernandezae* e *P. henselii*, recuperado como grupo irmão das demais espécies do clado. O grupo de *Physalaemus olfersii*, composto por *P. olfersii*, *P. soaresi*, *P. maximus*, *P. feioi* e *P. lateristriga*. O grupo *P. biligonigerus*, composto por *P. biligonigerus*, *P. marmoratus*, *P. santafecinus* e *P. riograndensis*. O grupo de *P. cuvieri* diferiu do proposto por Nascimento *et al.*, 2005 apenas pela inclusão de *P. albifrons* e exclusão de *P. cicada*. *Physalaemus cuvieri* foi

inferido como parafilético em relação a *P. ephippifer* e foram encontradas diferentes linhagens dentre indivíduos atualmente tratados como *P. cuvieri*, indicando se tratar de um complexo de espécies.

As relações intragenéricas nunca foram analisadas do ponto de vista filogenético utilizando caracteres morfológicos. Dessa forma, mostra-se necessário um estudo que inclua caracteres moleculares e morfológicos para elucidar as relações intragenéricas em *Physalaemus*, propondo sinapomorfias morfológicas que suportem os clados.

OBJETIVOS

O trabalho foi desenvolvido tendo como objetivo principal analisar comparativamente a morfologia das espécies de *Physalaemus*, com isso, acrescentar a inferências de relacionamento caracteres potencialmente informativos provenientes de complexos anatômicos relativamente pouco explorados para o grupo, além de avaliar os efeitos de uma matriz de caracteres fenotípicos em uma análise com caracteres predominantemente moleculares.

MATERIAL E MÉTODOS

SELEÇÃO DE TÁXONS

Grupo interno

Trinta e nove, das 48 associadas ao gênero *Physalaemus* (Frost 2019), além de uma espécie em descrição (Leal *et al.* 2019, no prelo) foram utilizadas para reconstruir a história filogenética do gênero com base em caracteres de morfológicos e moleculares. Exemplares das espécies não disponíveis na Coleção Herpetológica da UFMG foram

solicitados a diversas coleções (Apêndice I). Códigos das coleções são: CFBH= Coleção de Anfíbios Célio Baptista Haddad, MACN = Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia", MZUSP = Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo, UFMG = Coleção Herpetológica da Universidade Federal de Minas Gerais, ZUEC = Museu de História Natural, Universidade Estadual de Campinas. Optei por incluir na análise apenas espécies que possuíam sequências moleculares, e, portanto, nem todas as espécies que foram codificadas na matriz morfológica foram incluídas da análise de evidência total, devido à indisponibilidade de recursos para sequenciamento molecular. Para amostragem de duas espécies raras em coleções, *P. moreirae* e *P. maculiventris*, foi realizada uma expedição de campo em dezembro de 2017, no Parque das Neblinas, Mogi das Cruzes e Bertioga, São Paulo, na qual obtivemos êxito apenas na coleta da primeira espécie citada.

Grupo externo

O grupo externo foi escolhido para testar a monofiletismo de *Physalaemus* e a relação entre as espécies do gênero. Para isso, incluí exemplares de espécies dos demais gêneros de Leptodactylidae baseada nas hipóteses filogenéticas de Pyron & Wiens 2011, Fouquet *et al.* 2013 e Lourenço *et al.* 2015, restringida por dois critérios (1) disponibilidade de dados no GenBank e (2) disponibilidade de espécimes para estudos morfológicos. Assim, foram incluídas espécies dos gêneros: *Edalorhina*, *Engystomops*, *Pleurodema*, *Pseudopaludicola* (Leiuperinae), *Adenomera*, *Leptodactylus* (Leptodactylinae), *Paratelmatobius*, *Crossodactylodes*, *Scythrophrys* e *Rupirana* (Paratelmatobiinae). A árvore foi enraizada em *Zachaenus parvulus*, e outra espécie da família Cycloramphidae, *Cycloramphus boraceiensis* foi incluída na análise. O

monofiletismo do clado composto pelas duas espécies de Cycloramphidae foi forçado na árvore. Os Apêndices I e II apresentam a lista completa do material analisado neste estudo.

AMOSTRAGEM DE CARACTERES MORFOLÓGICOS

Um total de 200 caracteres foram codificados, representando quatro sistemas independentes: morfologia externa, vísceras, musculatura e osteologia. Do total, 169 foram codificados primariamente por mim, e o restante foram retirados ou modificados da literatura, conforme tabela abaixo:

Tabela 1: Sistemas de caracteres utilizados neste estudo. Para cada sistema, está especificada a quantidade de caracteres codificada para cada fonte (entre parênteses, o número dos caracteres correspondentes na matriz de caracteres apresentada a seguir) e as principais referências em que me baseei para codificação dos caracteres de cada sistema.

Sistema	Fonte		Referências
	Este trabalho	Literatura	
Morfologia externa	53 caract.	11 caract. (5-12, 17, 20, 22)	Liu 1935, Lynch 1971, Trueb & Duellman 1986, Grant <i>et al.</i> 2006, de Sá <i>et al.</i> 2014, Rodrigues 2016
Miologia	14 caract.	11 caract (72-79, 81, 83, 87)	Tyler 1971, Heyer 1975, Burton 1998, 2004, Verdade 2005
Vísceras	9 caract.	2 caract. (98, 99)	Duellman & Trueb 1986, Grant <i>et al.</i> 2006, Franco-Belussi <i>et al.</i> 2009, Franco-Belussi <i>et al.</i> 2012, Franco-Belussi <i>et al.</i> 2013
Osteologia	93 caract.	7 caract. (111, 113, 115, 126, 148, 163, 172)	Trewavas 1933, Lynch 1971, Trueb 1973, 1993, Fabrezi 1992, 1993, Silva 1998, Burton 1998, Grant <i>et al.</i> 2006, Ponssa 2008, 2010, de Sá <i>et al.</i> 2014

Para codificação dos caracteres, foi seguida a proposta de Sereno (2007), considerando os caracteres como propriedades das espécies, observadas em organismos, expressadas como variáveis independentes, com estados mutuamente exclusivos. O estado “ausente” de um caráter está sendo considerado apenas para caracteres neomórficos.

Terminologias das estruturas dos adultos seguiram: Duellman (1970, 2001), para morfologia externa; Tyler (1971) e Burton (1998, 2004), para miologia; Lynch (1971) Trueb (1973), Fabrezi (1992, 1993, 2001) e Fabrezi & Alberch (1996), para osteologia. Para dissecação e análise dos caracteres musculares e osteológicos, os exemplares foram diafanizados com uso de tripsina de acordo com a metodologia descrita por Dingerkus & Uhler (1977), com modificações mínimas, sendo o processo interrompido antes da digestão pela tripsina para observação da musculatura (Barrasso *et al.* 2012). A matriz foi editada no software Mesquite v.3.15 (Maddison & Maddison 2018).

AMOSTRAGEM DE CARACTERES MOLECULARES

Para estudos moleculares, utilizei sequências provenientes dos genes mitocondriais 12S e 16S ribossomais, e a região tRNA-val, além do gene RAG-1 nuclear, foram tirados do GenBank ou gentilmente cedidos pela Dra. Luciana Bolsoni Lourenço. Ao todo, 63 sequências mitocondriais (12S e 16S) de *Physalaemus* foram utilizadas, além de 7 sequências de outros representantes de Leiuperinae, 6 sequências de representantes de Paratelmatobiinae, além sequências de 2 espécies da família Cycloramphidae. A maior parte das sequências foi utilizada por Lourenço *et al.* (2015), em sua extensa análise do gênero. Para a maioria das espécies, uma sequência mitocondrial (12S e 16S) foi utilizada. Para *Physalaemus cuvieri*, sequências de todas as linhagens encontradas por Lourenço *et*

al. (2015) foram incluídas. Para a inclusão de sequências de RAG-1, adotei uma postura conservadora, utilizei, quando disponíveis, sequências apenas dos mesmos indivíduos para os quais obtive sequências de H1, a fim de evitar inferências de monofiletismo das espécies. Todas as sequências utilizadas neste estudo estão listadas no Apêndice II. Para evitar *soft polytomies* resultantes da falta de informações filogenéticas (Maddison 1989), não foram incluídas na análise de evidência total espécies para as quais não havia dados moleculares.

ANÁLISES FILOGENÉTICAS

Os dados morfológicos foram codificados para cada indivíduo e dados de todos os indivíduos de uma espécie foram concatenados para ter a espécie como terminal. Para caracteres polimórficos, foram codificados todos os estados de cada caráter encontrados para a espécie.

As sequências moleculares foram alinhadas utilizando o Muscle (Edgar 2004) plugin no software AliView (Larsson 2014) nos parâmetros *default* do programa, sendo o alinhamento melhorado duas vezes com o comando *refine*. As sequências mitocondriais e nucleares foram concatenadas no SequenceMatrix (Vaidya *et al.* 2011).

Para análise de evidência total, sequências de cada espécime foram tratadas como terminal. Os dados morfológicos de cada espécie foram duplicados para cada terminal molecular da mesma espécie, seguindo a proposição de Grant *et al.* (2006) para evitar otimizações ambíguas provenientes de entradas faltantes (*missing entries*). Nenhum terminal quimérico foi utilizado.

O método filogenético escolhido foi a parcimônia, um método não-probabilístico, não-paramétrico de inferência, que maximiza o poder explanatório minimizando a quantidade de passos (eventos evolutivos) e de suposições sobre o processo de evolução do caráter necessários para explicar a evidência (Kluge & Grant 2006, Grant & Kluge 2009). A escolha deste método filogenético se deu devido à utilização de caracteres morfológicos na análise e por sua menor demanda em esforço computacional. Ao escolher um só método, considere que a comparação entre diferentes métodos é imprecisa e questionável, e a realização de diversas análises pode levar ao viés da escolha da melhor árvore. A análise de evidência total dos dados moleculares e morfológicos concatenados foi realizada no software TNT v.1.1 (Goloboff *et al.* 2003). Os *gaps* foram tratados como um quinto estado de caráter, a fim de serem considerados como inserções e deleções de nucleotídeos. As árvores mais parcimoniosas foram inferidas através de buscas heurísticas realizadas utilizando as buscas tradicionais combinadas com as novas tecnologias (*Ratchet* (Nixon 1999), *Tree Drifting* (Goloboff 1999), *Sectorial Searches* (Goloboff 1999) e *Tree Fusing* (Goloboff 1999)). Para estas análises, utilizei o *default* do programa para estes algoritmos, com 1000 replicações, retendo 100 árvores por replicação. As buscas foram feitas com o critério de colapso de nós de comprimento mínimo zero (“minimum length”). Os valores de *bootstrap* foram calculados para os ramos da árvore de consenso estrito inferida na análise com 1000 pseudoréplicas, utilizando a busca tradicional (*traditional search*) no TNT, sem critério de colapso de nós (“none”). Uma análise com apenas os dados moleculares foi realizada sob os mesmos parâmetros da análise de evidência total, para testar os efeitos da falta de uma fonte de dados. Nenhuma alteração foi feita na base de dados moleculares em relação à análise de evidência total, para permitir uma comparação confiável. A análise dos caracteres foi feita

baseada nos resultados da análise de evidência total como a hipótese filogenética que melhor explica a evidência, pois a análise de todos os dados disponíveis maximiza o poder explanatório (Grant & Kluge 2003).

Para a otimização dos caracteres, foi utilizado o programa Winclada ver. 1.00.08 (Nixon 2002). Foram considerados como sinapomorfias, caracteres não-ambíguos com relação ao tipo de otimização (ACCTRAN/DELTRAN) na árvore de consenso da AET. O Winclada indica com círculos pretos, caracteres sinapomórficos que ocorrem exclusivamente no clado em questão, e com círculos vazados, os que ocorrem também em outros clados.

RESULTADOS

DESCRIÇÃO DOS CARACTERES MORFOLÓGICOS

A evidência morfológica observada neste estudo incluiu 200 caracteres de adultos maduros (machos e fêmeas), divididos em quatro sistemas:

- Morfologia externa: caracteres 1-64
- Miologia: caracteres 65-88
- Vísceras: caracteres 89-100
- Osteologia: caracteres 101-200

ANÁLISES FILOGENÉTICAS

A análise de evidência total (AET) recuperou duas árvores igualmente parcimoniosas, com 10821 passos (Figura 38), enquanto a análise com apenas dados moleculares (ADM) recuperou 39 árvores igualmente parcimoniosas com 9821 passos

(Figura 37). Ambas as análises recuperaram a monofiletismo do gênero *Physalaemus*, assim como os demais gêneros amostrados. *Physalaemus* foi recuperado como grupo irmão de (*Engystomops Edalorhina*). O relacionamento próximo de *Pleurodema* com o clado composto por *Physalaemus*, *Engystomops* e *Edalorhina* previamente inferido por Pyron and Wiens (2011), Faivovich *et al.* (2012), Fouquet *et al.* (2013) e Lourenço *et al.* (2015) foi recuperado nestas análises. *Pseudopaludicola* foi recuperado como grupo irmão dos demais Leiuperinae apenas na AET, embora com baixo suporte. Na ADM, o agrupamento do gênero foi ambíguo, resultando em uma politomia na base dos Leptodactylidae na árvore de consenso estrito. A subfamília Paratelmatobiinae (sensu Fouquet *et al.* 2013), não foi recuperada em nenhuma das análises. Na árvore de consenso estrito da AET, *Rupirana* se encontra em uma politomia na base de Leptodactylidae. Na ADM, *Rupirana* é recuperada como grupo irmão de *Leptodactylus*.

As relações entre as espécies de *Physalaemus* inferidas nas duas análises foram bastante congruentes (Figura 37 e Figura 38). A AET (Figura 38) recuperou, embora com baixo suporte, o grupo de *P. signifer*, como proposto por Nascimento *et al.* (2005), com *P. maculiventris* na base do clado. Já na ADM (Figura 37), seu posicionamento foi ambíguo na base do grupo de *P. signifer* e na base do grupo de *P. deimaticus*, resultando em uma politomia. *Physalaemus nattereri* ficou na base deste clado composto pelos grupos de *Physalaemus deimaticus* e de *Physalaemus signifer*.

Physalaemus aguirrei ficou posicionado na base de um clado formado pelo grupo de *P. biligonigerus* + grupo de *P. olfersii* + grupo *P. gracilis* (sensu Lourenço *et al.* 2015) nas duas análises. Na AET, o grupo de *P. biligonigerus* foi recuperado como grupo irmão do grupo de *P. gracilis*. Já na ADM, os três grupos aparecem em uma politomia no

consenso estrito, devido à ambiguidade no agrupamento de grupo de *P. gracilis* + grupo de *P. olfersii* em algumas das árvores mais parcimoniosas. O grupo de *P. biligonigerus* (sensu Lourenço *et al.* 2015) foi recuperado, embora com baixo suporte, apenas na análise de evidência total, já que *Physalaemus riograndensis* teve o posicionamento ambíguo entre as árvores mais parcimoniosas inferidas na ADM, resultando em uma politomia na base dos cladogramas correspondentes aos grupos de *P. gracilis* + grupo de *P. olfersii* + grupo de *P. biligonigerus*. *P. cicada* foi recuperado em ambas as análises com relativamente alto suporte na base do clado composto por *P. aguirrei* + grupo de *P. biligonigerus* + grupo de *P. olfersii* + grupo de *P. gracilis*. *P. henselii* ficou posicionado na base deste clado na AET, com baixíssimo suporte (Figura 38). Na ADM, foi ambigualmente posicionado também na base do grupo de *P. cuvieri*, resultando em uma politomia no consenso estrito (Figura 37). *Physalaemus cuvieri* foi parafilético com relação a *P. ephippifer* em ambas as análises.

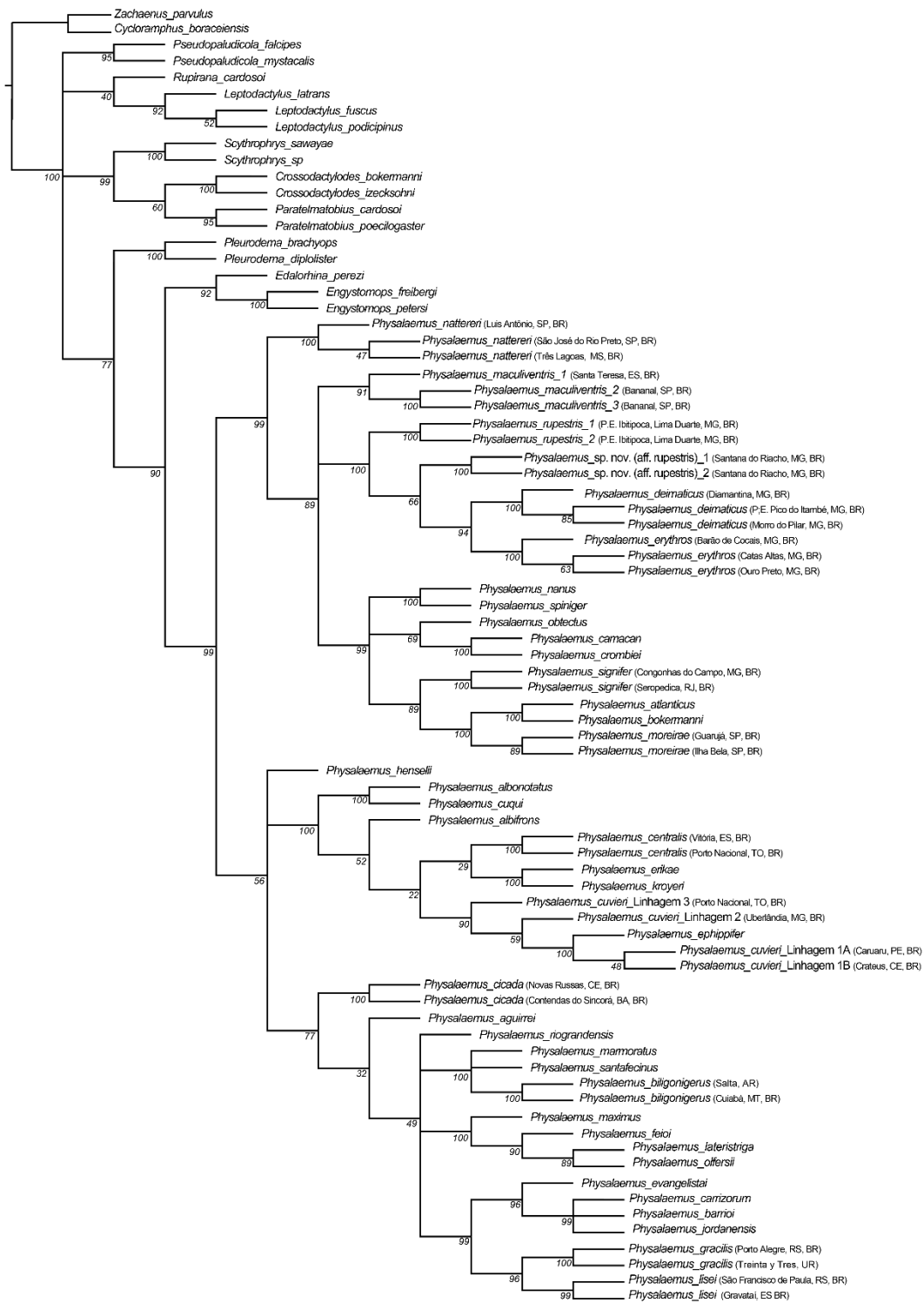


Figura 37: Consenso estrito das 39 árvores mais parcimoniosas (9821 passos), somente com dados moleculares. Os números correspondem valores de suporte de bootstrap. L, linhagem. Os estados brasileiros e países estão representados pelas siglas oficiais. BR Brasil, AR Argentina UR Uruguai.

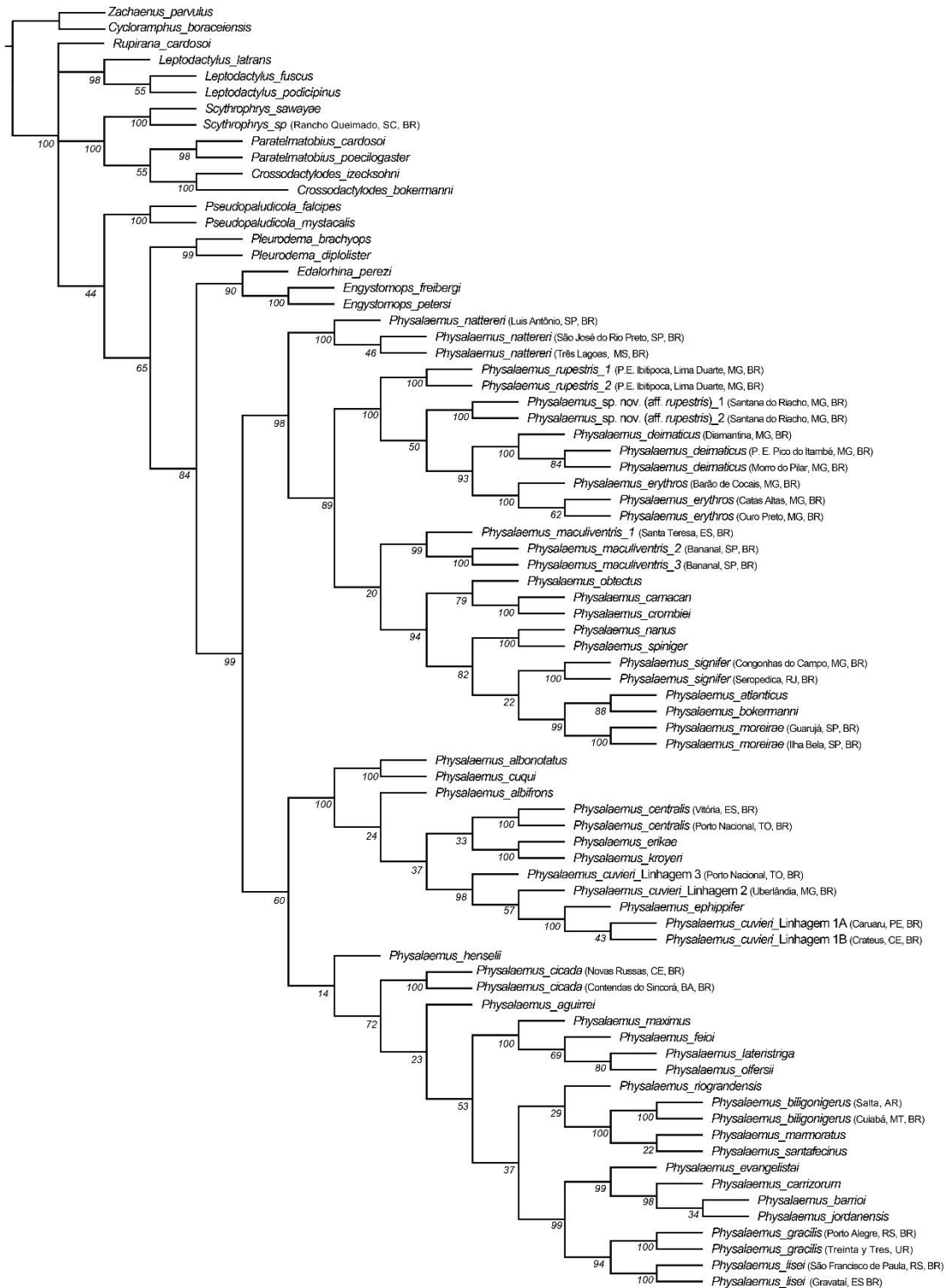


Figura 38: Consenso estrito das 2 árvores mais parcimoniosas (10821 passos) da matriz de evidência total. Os números correspondem valores de suporte de bootstrap. Os estados brasileiros estão representados pelas siglas oficiais. BR Brasil, AR Argentina UR Uruguai.

CONCLUSÕES

- Grupos de *Physalaemus* foram recuperados com alto suporte, embora as relações entre vários deles tenha sido recuperada com baixo suporte, necessitando análises mais robustas para elucidação.
- Comparando-se as topologias das árvores de consenso das análises de evidência total e de dados moleculares somente, percebe-se uma discreta mudança na topologia, com alguns clados melhor resolvidos na topologia da árvore de consenso da análise de evidência total. Contudo, o suporte destes clados foi muito baixo, e mais dados são necessários para possibilitar inferências mais precisas.
- Neste trabalho, novas sinapomorfias foram propostas para suportar os clados.
- Uma nova característica morfológica nunca antes reportada para o gênero foi encontrada: a ausência de aparato timpânico, em *Physalaemus deimaticus* e *P. eryhtros*.
- As relações de *Physalaemus cicada*, *Physalaemus aguirrei* e *Physalaemus henselii* ainda precisam ser elucidadas

REFERÊNCIAS

- Antoniazzi M.M., Neves P.R., Mailho-Fontana P.L., Rodrigues M.T., Jared C. (2013) Morphology of the parotoid macroglands in *Phyllomedusa* leaf frogs. *Journal of Zoology* 291, 42–50.
- Bokermann, W.C.A. (1962) Notas sobre três espécies de *Physalaemus* (Amphibia, Salientia, Leptodactylidae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, Rio de Janeiro 34, 563–568.
- Bokermann, W.C.A. (1966) Dos nuevas espécies de *Physalaemus* de Espírito Santo, Brasil (Amphibia, Leptodactylidae). *Physis*, 26, 193–20.
- Burton, T.C. (1983) The musculature of the Papuan frog *Phrynomantis stictogaster* (Anura, Microhylidae). *Journal of Morphology*, 175, 307–324. <https://doi.org/10.1002/jmor.1051750308>
- Burton, T.C. (1998a) Variation in the hand and superficial throat musculature of neotropical Leptodactylid frogs. *Herpetologica* 54(1): 53–72.
- Burton T.C. (1998b) Are the distal extensor muscles of the fingers of anurans an adaptation to arboreality. *Journal of Herpetology*, 32, 611–617. <https://doi.org/10.2307/1565224>
- Burton, T.C. (2001) Variation in the foot muscles of frogs of the family Myobatrachidae. *Australian Journal of Zoology*, 49, 539–559. <https://doi.org/10.1071/ZO01045>
- Burton, T.C. (2004) Muscles of the pes of hylid frogs. *Journal of Morphology*, 260, 209–233. <https://doi.org/10.1002/jmor.10204>
- Cannatella, D.C. & Duellman, W. (1984) Leptodactylid frogs of the *Physalaemus pustulosus* group. *Copeia*, 902–921. <https://doi.org/10.2307/1445335>
- Caramaschi, U., Feio, R.N., Guimarães-Neto, A.S., (2003) A new, brightly colored species of *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae) from Minas Gerais, Southeastern Brazil. *Herpetologica*, 59, 521–526. <https://doi.org/10.1655/02-102>
- Cardoso, A.J. & Haddad, C.F.B. (1985) Nova espécie de *Physalaemus* do grupo *signiferus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Revista Brasileira de Biologia*, 45, 33–37.

- Cruz, C.A.G., Nascimento, L.B. & Feio, R.N., (2007) A new species of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leiuperidae) from Southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 28, 457–465. <https://doi.org/10.1163/156853807782152444>
- Dingerkus, G. & Uhler, L. (1977) Enzyme clearing of alcian blue stained whole small vertebrates for demonstration of cartilage. *Biotechnic & Histochemistry*, 52, 229–232. <https://doi.org/10.3109/10520297709116780>
- Duellman, W.E. (1970) Hylid frogs of Middle America. Monographs of the Museum of Natural History, University of Kansas 1–2, 1–753.
- Duellman, W.E. (2001) *Hylid frogs of Middle America*. 2^o Edition. Ithaca, New York, U.S.A: Society for the Study of Amphibians and Reptiles/Natural History Museum of the University of Kansas. pp. 1–1158.
- Duellman, W.E. & Trueb, L. (1986) *Biology of Amphibians*. McGraw-Hill Book Company, New York. <https://doi.org/10.2307/1445022>
- Edgar, R.C. (2004) MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32, 1792–1797. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
- Fabrezi, M. & Alberch, P. (1996) The carpal elements of anurans. *Herpetologica*, 52, 2, 188–204.
- Fabrezi, M. & Barg, M. (2001) Patterns of carpal development among anuran amphibians. *Journal of Morphology*, 249, 210–220. <https://doi.org/10.1002/jmor.1050>
- Fabrezi, M. (1992) El carpo de los anuros. *Alytes*, 10,1, 1–29.
- Fabrezi, M. (1993) The anuran tarsus. *Alytes*, 11, 2, 47–63.
- Faivovich, J., Ferraro, D.P., Basso, N.G., Haddad, C.F.B., Rodrigues, M.T., Wheeler, W.C. & Lavilla, E.O. (2012) A phylogenetic analysis of *Pleurodema* (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae) based on mitochondrial and nuclear gene sequences, with comments on the evolution of anuran foam nests. *Cladistics*, 28, 460–482. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2012.00406.x>
- Faivovich, J., Haddad, C.F.B., Garcia, P.C.A., Frost, D.R., Campbell, J.A. & Wheeler, W.C. (2005) Systematic review of the frog family Hylidae, with special

reference to Hylinae: phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 294, 1–240. [https://doi.org/10.1206/0003-0090\(2005\)294\[0001:SR0TFF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1206/0003-0090(2005)294[0001:SR0TFF]2.0.CO;2)

- Fouquet, A., Blotto, B.L., Maronna, M.M., Verdade, V.K., Juncá, F.A., de Sá, R. & Rodrigues, M.T. (2013) Unexpected phylogenetic positions of the genera *Rupirana* and *Crossodactylodes* reveal insights into the biogeography and reproductive evolution of leptodactylid frogs. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 67, 445–457. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.02.009>
- Franco-Belussi, L., Santos, L.R. de S., Zieri, R., Vicentini, C.A., Taboga, S.R. & Oliveira, C. (2012) Liver Anatomy, Histochemistry, and Ultrastructure of *Eupemphix nattereri* (Anura: Leiuperidae) During the Breeding Season. *Zoological Science*, 29, 12, 844–848. <https://doi.org/10.2108/zsj.29.844>
- Franco-Belussi, L., Santos, L.R.S., Zieri, R., & Oliveira, C. (2011) Visceral pigmentation in for *Dendropsaophus* species (Anura: Hylidae): occurrence and comparison. *Zoologischer Anzeiger*, 250, 102–110.
- Franco-Belussi, L., Zieri, R., Santos, L.R.S., Moresco, R.M., & Oliveira, C. (2009) Pigmentation in anuran testes: anatomical pattern and variation. *The Anatomical Record*, 292, 178–182.
- Fratani J., Ponssa, M.L. & Abdala, V. (2018). Tendinous framework of anurans reveals an all-purpose morphology. *Zoology*, 126, 172–184. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2017.08.007>
- Frost, D.R., Grant, T., Faivovich, J., Bain, R.H., Hass, A., Haddad, C.F.B., De Sa, R. O., Channing, A., Wilkinson, M., Donnellan, S.C., Raxworthy, C.J., Campbell, J.A., Blotto, B.L., Moler, P., Drewes, R.C., Nussbaum, R.A., Lynch, J.D., Green, D.M. & Wheeler, W.C (2006) The amphibian tree of life. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 297, 1–370. [https://doi.org/10.1206/0003-0090\(2006\)297\[0001:TATOL\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1206/0003-0090(2006)297[0001:TATOL]2.0.CO;2)
- Frost, D. R. (2019) Amphibian Species of the World: An Online Reference. Version 6.0. American Museum of Natural History, New York, USA. Electronic Database available from: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. (Data de acesso: 10 de julho de 2019)

- Goloboff, P.A. (1999) Analyzing large data sets in reasonable times: solutions for composite optima. *Cladistics*, 15, 415–428. <https://doi.org/10.1006/clad.1999.0122>
- Goloboff, P.A., Farris, J.S. & Nixon, K.C. (2003) T.N.T.: Tree Analysis using new technology. Program and Documentation. <www.zmuc.dk/public/phylogeny>.
- Goloboff, P.A., Farris, J.S. & Nixon, K.C. (2008) TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics*, 24, 774–786. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2008.00217.x>
- Grant, T. & Kluge, A.G. (2004) Transformation series as an ideographic character concept. *Cladistics*, 20, 23–31. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2004.00003.x>
- Grant, T., Frost D.R., Caldwell J.P., Gagliardo, R., Haddad, C.F.B., Kok, P.J.R., Means, B. D., Noonan, B.P., Schargel, W. & Wheeler, W.C. (2006) Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Anura: Athesphatanura: Dendrobatidae). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 299, 1–262. [https://doi.org/10.1206/0003-0090\(2006\)299\[1:PSODFA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1206/0003-0090(2006)299[1:PSODFA]2.0.CO;2)
- Grant, T., & Kluge, A.G. (2003) Data exploration in phylogenetic inference: Scientific, heuristic, or neither. *Cladistics*, 19, 379–418. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2003.tb00311.x>
- Grant, T., & Kluge, A.G. (2009) Perspective Parsimony, explanatory power, and dynamic homology testing. *Systematic Biodiversity*, 7, 357–363.
- Grosso, J., Baldo, D., Cardozo, D., Kolenc, F., Borteiro, C., de Oliveira, M.I.R., Bonino, M., Barrasso, D. A., Candiotti, F. V. (2019) Early ontogeny and sequence heterochronies in Leiuperinae frogs (Anura: Leptodactylidae). *PLoS ONE*, 14, 6, e0218733. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0218733>
- Haas, A. (2003) The phylogeny of frogs as inferred from primarily larval characters. *Cladistics*, 19: 23–89. [https://doi.org/10.1016/S0748-3007\(03\)00006-9](https://doi.org/10.1016/S0748-3007(03)00006-9)
- Haddad, C.F.B. & Sazima, I. (2004) A new species of *Physalaemus* (Amphibia: Leptodactylidae) from the Atlantic forest southeastern Brazil. *Zootaxa*, 479, 1–12. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.479.1.1>

- Heyer, W.R. (1975) A preliminary analysis of the intergeneric relationships of the frog family Leptodactylidae. *Smithsonian Contributions to Zoology*, 199, 1–55. <https://doi.org/10.5479/si.00810282.199>
- Heyer, W.R. (1985) New species of frogs from Boracéia, São Paulo, Brazil. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 98, 657–671.
- Heyer, W.R. & Wolf, A.J. (1989) *Physalaemus crombiei* (Amphibia: Leptodactylidae), a new frog species from Espírito Santo, Brazil with comments on the *P. signifer* group. *Proceedings of the Biological Society of Washington*, 102, 500–506.
- Horton, P. (1982) Diversity and systematic significance of anuran tongue musculature. *Copeia*, 3, 595–602. <https://doi.org/10.2307/1444659>
- Hoyos, J.M., Mantilla, C., Galindo, D. & Salgar, L. (2014) Phylogenetic analysis within the *Pristimantis unistrigatus* (Anura, Craugastoridae) group based on morphological characters. *Caldasia* 36, 107–124. <https://doi.org/10.15446/caldasia.v36n1.43894>
- Hoyos, J.M. & Salgar, L. (2016) New conditions and intraspecific variation of some muscles of hands and feet of *Dendropsophus labialis* (Peters, 1863) (Anura, Hylidae). *Acta Zoologica*, 97, 143–153. <https://doi.org/10.1111/azo.12151>
- Kaplan, M. (2004) Evaluation and redefinition of the states of anuran pectoral girdle architecture. *Herpetologica*, 60, 1, 84–97. [https://doi.org/10.1655/0018-0831\(2004\)060\[0084:EAROTS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1655/0018-0831(2004)060[0084:EAROTS]2.0.CO;2)
- Kluge, A.G. & Grant, T. (2006) From conviction to anti-superfluity: old and new justifications for parsimony in phylogenetic inference. *Cladistics*, 22, 276–288. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2006.00100.x>
- Larsson, A. (2014) AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics*, 30, 22, 3276–3278. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu531>
- Leal, F., Leite F. S. F., Costa, W. P., Nascimento, L. B., Lourenço, L. B., Garcia, P. C. A. (2019). Amphibians from Serra do Cipó, Minas Gerais, Brasil. VI: A New Species of the *Physalaemus deimaticus* Group (Anura, Leptodactylidae). No prelo.

- Lenzi-Mattos, R., Antoniazzi, M.M., Haddad, C.F.B., Tambourgi, D.V., Rodrigues, M. T. & Jared, C. (2005) The inguinal macroglands of the frog *Physalaemus nattereri* (Leptodactylidae): structure, toxic secretion and relationship with deimatic behavior. *Journal of Zoology*, 266, 285–294. <https://doi.org/10.1017/S095283690500703X>
- Liu, C.C. (1935) Types of vocal sac in the Salientia. *Proceedings of the Boston Society of Natural History*, 19–40.
- Lobo, F. (1992) Descripción osteológica de *Physalaemus fernandezae* (Anura: Leptodactylidae) y comparación con otras especies del género. *Acta Zoológica Lilloana*, 42, 51–53.
- Lobo, F. (1993) Descripción de una nueva especie del género *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) del noroeste argentino. *Revista Española de Herpetología*, 13–20.
- Lobo, F. (1995) Análisis filogenéticos del género *Pseudopaludicola* (Anura: Leptodactylidae). *Cuadernos de Herpetología*, 9, 21–43.
- Lobo, F. (1996) Nuevas observaciones sobre la osteología del género *Physalaemus* (Anura: Leptodactylidae). *Acta Zoologica Lilloana*, 43, 317–326.
- Lourenço, L.B., Bacci-Júnior, M., Martins, V.G., Recco-Pimentel, S.M. & Haddad, C.F.B. (2008) Molecular phylogeny and karyotype differentiation in *Paratelmatobius* and *Scythrophrys* (Anura, Leptodactylidae). *Genetica*, 132, 255–266. <https://doi.org/10.1007/s10709-007-9169-y>
- Lourenço, L.B., Targueta, C.P., Baldo, D., Nascimento, J., Garcia, P.C.A., Andrade G.V., Haddad, C.F.B. & Recco-Pimentel, S.M. (2015) Phylogeny of frogs from the genus *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) inferred from mitochondrial and nuclear gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 92, 204–216. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.06.011>
- Lynch, J. (1970) Systematic status of the American Leptodactylid frog genera *Engystomops*, *Eupemphix* and *Physalaemus*. *Copeia*, 488–496. <https://doi.org/10.2307/1442276>
- Lynch, J.D. (1971) Evolutionary relationships, osteology, and zoogeography of Leptodactylid frogs. *Miscellaneous Publication Museum of Natural History University of Kansas*, 53, 1–238.

- Maddison, W.P. & Maddison, D.R. (2018) Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 3.51. <http://www.mesquiteproject.org>
- Miranda-Ribeiro, A.D. (1926) Notas para servirem ao estudo dos Gymnobatrachios (Anura) Brasileiros. *Arquivos do Museu Nacional*, 26, 1–227.
- Nixon, K.C. (1999) The parsimony ratchet, a new method for rapid parsimony analysis. *Cladistics*, 15, 407–414. <https://doi.org/10.1006/clad.1999.0121>
- Pauly G.B., Hillis, D.M. & Cannatella, D.C. (2004) The history of a nearctic colonization: molecular phylogenetics and biogeography of the Nearctic toads (*Bufo*). *Evolution*, 58, 2517–2535. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2004.tb00881.x>
- Pereira, E. B., Collevati, R.G., Kokubum, M.N.C., Miranda, M.E.O. & Maciel, N.M. (2015) Ancestral reconstruction of reproductive traits shows no tendency toward terrestriality in Leptodactylinae frogs. *BMC Evolutionary Biology*, Londres, v. 15, p. 91. <https://doi.org/10.1186/s12862-015-0365-6>
- Pereyra, M.O., Womack, M.C., Barrionuevo, J.S., Blotto, B.L., Baldo, D., Targino, M., Ospina-Sarria, J.J., Guayasamin J.M., Coloma, C.A., Hoke, K.L., Grant, T. & Faivovich, J. (2016) The complex evolutionary history of the tympanic middle ear in frogs and toads (Anura). *Scientific Reports*, 6, 1–9. <https://doi.org/10.1038/srep34130>
- Pimenta, B.V.S., Cruz, C.A.G. & Silvano, L.S. (2005) A new species of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic Rain Forest of southern Bahia, Brazil. *Amphibia-Reptilia*, 26, 201–210. <https://doi.org/10.1163/1568538054253483>
- Pombal Jr., J.P., & Madureira, C.A. (1997) A new species of *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) from the Atlantic rain forest of northeastern Brazil. *Alytes*, 15, 105 – 112.
- Provete, D.B., Franco-Belussi, L., de Souza Santos, L.R., Zieri, R., Moresco, R.M., Martins, I.A., de Almeida, S.C. & de Oliveira, C. (2012) Phylogenetic signal and variation of visceral pigmentation in eight anuran families. *Zoologica Scripta*.
- Pyron, R.A. & Wiens, J.J. (2011) A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2,800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and

- caecilians. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 61, 2,543–583. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.06.012>
- Regal, P.J. & Gans, C. (1976) Functional aspects of the evolution of frog tongues. *Evolution*, 30, 718–734. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1976.tb00952.x>
- Rodrigues, I. (2016) Morfologia e histologia de calosidades nupciais em Leiuperinae e Paratelmatobinae (Amphibia: Anura: Leptodactylidae): descrição, busca de caracteres filogenéticos e comentários evolutivos. Dissertação de mestrado, Universidade Federal de Minas Gerais, 209 pp.
- Ron, S.R., Santos, J.C., & Cannatella, D.C. (2006) Phylogeny of the túngara frog genus *Engystomops* (*Physalaemus pustulosus* species group; Anura: Leptodactylidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 39, 392–402. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.11.022>
- Sereno, P. (2007) Logical basis for morphological characters in phylogenetics. *Cladistics*, 23, 565–587. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2007.00161.x>
- Tárano, Z., & Ryan, M.J. (2002) No pre-existing biases for heterospecific call traits in the frog *Physalaemus enesevae*. *Animal Behaviour*, 64, 599–607. <https://doi.org/10.1006/anbe.2002.3080>
- Targino, M., Elias-Costa, A.J., Taboada, C. & Faivovich, J. (2019) Novel morphological structures in frogs: vocal sac diversity and evolution in Microhylidae (Amphibia: Anura). *Zoological Journal of the Linnean Society*. <https://doi.org/10.1093/zoolinnean/zlz042>
- Targueta, C.P., Rivera, M., Souza, M.B., Recco-Pimentel, S.M. & Lourenço, L.B. (2010) Cytogenetic contributions for the study of the Amazonian *Engystomops* (Anura, Leiuperidae) assessed in the light of phylogenetics relationships. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 54, 709–725. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2009.10.018>
- Tihen, J.A. (1962) Osteological observations on New World *Bufo*. *American Midland Naturalist*, 67, 57–183. <https://doi.org/10.2307/2422826>
- Toledo, R.C. & Jared, C. (1995) Cutaneous granular glands and amphibian venoms. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 111, 1–29. [https://doi.org/10.1016/0300-9629\(95\)98515-I](https://doi.org/10.1016/0300-9629(95)98515-I)

- Trueb, L. (1970) Evolutionary relationships of casque-headed tree frogs with ossified skulls (family Hylidae). *Occasional papers of the Museum of Natural History the University of Kansas*, 18, 547–716. <https://doi.org/10.5962/bhl.part.19992>
- Trueb, L. (1973) Bones, frogs, and evolution. In: Vial, J.L. (Ed.) *Evolutionary Biology of the Anurans: Contemporary Research on Major Problems*. University of Missouri Press, Columbia, MO, pp. 65–132.
- Tyler, M.J. (1971) The phylogenetic significance of vocal sac structure in hylid frogs. *University of Kansas Publications Museum of Natural History*, 19, 4, 319–360. <https://doi.org/10.5962/bhl.part.15451>
- Vaidya G., Lohman, D.J. & Meier, R. (2011) SequenceMatrix: Concatenation software for the fast assembly of multi-gene datasets with character set and codon information. *Cladistics*, 27, 2, 171–180. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2010.00329.x>
- Verdade, V.K. (2005) Relações filogenéticas entre as espécies dos gêneros *Cycloramphus* Tschudi, 1838 e *Zachaenus*, Cope 1866 (Anura: Leptodactylidae). PhD. Thesis. Universidade de São Paulo. São Paulo, Brazil.
- Weber, L.N., Gonzaga, L.P., & de Carvalho-e-Silva, S.P. (2005) A new species of *Physalaemus* Fitzinger, 1826 from the lowland Atlantic Forest of Rio de Janeiro state, Brazil (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Arquivos do Museu Nacional do Rio de Janeiro*, 63, 677–684.
- Nixon, K.C. (2002) WinClada ver.1.00.08 Published by the author, Ithaca, NY, USA. Winclada.
- Zieri, R., de Souza Santos, L.R., Taboga, S.R., de Oliveira, C. & Franco-Belussi, L. (2015). Sex hormones change visceral pigmentation in *Eupemphix nattereri* (Anura): effects in testicular melanocytes and hepatic melanomacrophages. *Animal Biology*, 65, 1, 21–32. <https://doi.org/10.1163/15707563-00002457>

APÊNDICE I: Lista de espécimes analisados

Morfologia externa

Physalaemus aguirrei: BRASIL: ESPÍRITO SANTO: Governador Lindemberg (CFBH 26449); Linhares (CFBH 19457, 26259, 26496, 30487, 30673, 38294)

Physalaemus albifrons: BRASIL: BAHIA: Jacaraci (UFMG 4681); Pindobaçu (UFMG 6150-52); RIO GRANDE DO NORTE: Macaíba (AAGARDA 2472, 2897, 3624, 1077, 1094, 1832, 1834)

Physalaemus albonotatus: BRASIL: MATO GROSSO DO SUL: Corumbá (UFMG 3576. 3604-05, 5657-58, 15811)

Physalaemus atlanticus: BRASIL: SÃO PAULO: São Sebastião (CFBH 38802); Ubatuba (CFBH 1503. 4311, 4321, 4566, 7918; ZUEC 2616, 18244, 20423, 20424, 20430, 20635, 21939, 22656)

Physalaemus barrioi: BRASIL: SÃO PAULO: São José do Barreiro (CFBH 28817, 15002, 30815-16, 30819, 30825)

Physalaemus biligonigerus: BRASIL: MATO GROSSO DO SUL: Corumbá (UFMG 15839-41); PORTO ALEGRE: Viamão (ZUEC 10393); RIO GRANDE DO SUL: Osório (ZUEC 5322, 10377); Santo Antônio (ZUEC 11469); Torres (ZUEC 20456-57)

Physalaemus bokermanni: BRASIL: SÃO PAULO: Bertioga (UFMG 7169); Cubatão (CFBH 12507); Santo André (CFBH 6011); São Bernardo do Campo (CFBH 38016, 38024); São Sebastião (CFBH 9766, 12897, 38842-43)

Physalaemus camacan: BRASIL: BAHIA: Ilhéus (CFBH 27707, 34075, 35729, 39421); Porto Seguro (CFBH 32104); Una (CFBH 23679-80); Uruçuca (CFBH 32342)

Physalaemus carrizorum: BRASIL: SANTA CATARINA: Garuva (UFMG 19862); Joinville (UFMG 15667, 15680); São Bento do Sul (UFMG 9874-77, 10194, 10204)

Physalaemus centralis: BRASIL: MINAS GERAIS: Buenópolis (UFMG 7311); Brasilândia de Minas (UFMG 13664); Felixlândia (UFMG 13696); Florestal (UFMG

19079; Jaboticatubas (UFMG 5469-70, 5479); Varginha (UFMG 3736-37); Santana do Riacho (UFMG 3545-46, 10120)

Physalaemus cicada: BRASIL: BAHIA: Jacaraci (UFMG 4685, 4694); Sebastião Laranjeiras (UFMG 4786); MINAS GERAIS: Belo Horizonte (UFMG 7833-34); Buenópolis (UFMG 18545); Itacarambi e Manga (UFMG 8219)

Physalaemus crombiei: BRASIL: ESPÍRITO SANTO: Santa Teresa (UFMG 13715, 13718, 13723); MINAS GERAIS: Caratinga (UFMG 13437); Mariana (UFMG 10437); Santo Antônio do Itambé (UFMG 14750, 14811, 14814); São Gonçalo do Rio Abaixo (UFMG 11849, 11904, 11912)

Physalaemus cuqui: ARGENTINA (MACN 40953-56)

Physalaemus cuvieri: BRASIL: ALAGOAS: Arapiraca (UFMG 7587, 7601); BAHIA: Campo Formoso (UFMG 6219); Jacaraci (UFMG 4751, 4756); Piatã (UFMG 7892); Pindobaçu (UFMG 6095); Riacho Santana (UFMG 4841); Rio de Contas (UFMG 4430); Rio de Contas (UFMG 7852); Sebastião Laranjeiras (UFMG 4796); CEARÁ: Pecém (UFMG 2545-47); ESPÍRITO SANTO: Jardim Anchieta (UFMG 2553); GOIÁS: Colinas do Sul (UFMG 2533); Montes Claros de Goiás (UFMG 3907); MARANHÃO: São Luís (UFMG 2566-67); MATO GROSSO DO SUL: Caarapó (UFMG 8270); MINAS GERAIS: Barão de Cocais (UFMG 6582, 10674); Belo Horizonte (UFMG 2536); Brumadinho (UFMG 8644, 9266, 9361); Catas Altas (UFMG 5170, 7959); Conceição do Mato Dentro (UFMG 11131); Diamantina (UFMG 3964); Dom Joaquim (UFMG 17611); Itambé do Mato Dentro (UFMG 17615); Lassance (UFMG 19167-68); Mariana (UFMG 16202); Morro do Pilar (UFMG 17616); Passa Vinte (UFMG 2659); Rio Acima (UFMG 19277); Santa Bárbara (UFMG 2654); PARÁ: São Geraldo do Araguaia (UFMG 2607); PERNAMBUCO: Igarassu (UFMG 2541-42); RIO GRANDE DO NORTE: Macaíba (AAGARDA 1117, 1151, 1162, 1827, 1829, 1836-37, 1843); SANTA CATARINA: Florianópolis (UFMG 2552, 2554-57); TOCANTINS: Ananás (UFMG 2357)

Physalaemus deimaticus: BRASIL: MINAS GERAIS: Diamantina (UFMG 9609, 9598, 14940, 20128); Jaboticatubas (UFMG 14905); Morro do Pilar (UFMG 16771, 20107-10); Ouro Preto (UFMG 20117)

Physalaemus ephippifer: BRASIL: PARÁ: Alenquer (ZUEC 18152-53); Belém (ZUEC 13712, 13714, 13724); Marabá (UFMG 13211, 13272); Prainha (ZUEC 17594); Santa Isabel (ZUEC 21370); Vitória do Xingu (UFMG 18298-302)

Physalaemus erikae: BRASIL: BAHIA: Brumado (CFBH 33970); Ilhéus (CFBH 36096, ZUEC 17494-98); Itamaraju (CFBH 32121, 32128); Uruçuca (CFBH 28153, 32382, 34052)

Physalaemus erythros: BRASIL: MINAS GERAIS: Barão de Cocais (UFMG 14938-39, 15617), P.E. Pico do Itambé (UFMG 14084, 14259)

Physalaemus evangelistai: BRASIL: MINAS GERAIS: Caeté (UFMG 19658); Conceição do Mato Dentro (UFMG 6440); Ouro Preto (UFMG 4982); Santana do Riacho (UFMG 5586-8 8, 19509, 20196-201)

Physalaemus feioi: BRASIL: MINAS GERAIS: Caratinga (UFMG 13448); (UFMG 18595); Simonésia (UFMG 12847, 12863, 12878, 14529)

Physalaemus gracilis: BRASIL: PARANÁ: Pién (ZUEC 6944); RIO GRANDE DO SUL: Santa Vitória (ZUEC 6254); São Francisco de Paula (ZUEC 4937); São Domingos (UFMG 1661); Siderópolis (CFBH 23732); SANTA CATARINA: Siderópolis (CFBH 23733)

Physalaemus henselii: BRASIL: RIO GRANDE DO SUL: Eldorado do Sul (UFMG 20191-92)

Physalaemus jordanensis: BRASIL: MINAS GERAIS: Conceição dos Ouros (CFBH 39917); Poços de Caldas (CFBH 33-4, 4304, 4234, 5366, 6941, 6942); SÃO PAULO: Campos do Jordão (ZUEC 9741)

Physalaemus kroyeri: BRASIL: BAHIA: Jacaraci (UFMG 4757, 4806-07, 4825, 6162-63); Pindobaçu (UFMG 6161-63)

Physalaemus lateristriga: BRASIL: SANTA CATARINA: São Bento do Sul (UFMG 9836, 10176, 10186-87, 10469, 16666)

Physalaemus lisei: BRASIL: RIO GRANDE DO SUL: (UFMG 2679); Maquiné (CFBH 30389, 3039); São Francisco de Paula (UFMG 2675-78, CFBH 8528, 8535-36, 9409, 9410, 16693-702)

Physalaemus maculiventris: BRASIL: ESPÍRITO SANTO: Santa Teresa (CFBH 10813-14); SÃO PAULO: Apiaí e Iporanga (CFBH 2672932)

Physalaemus marmoratus: BRASIL: MINAS GERAIS: Curvelo (UFMG 2771-74); Grão Mogol (UFMG 15388); Jaboticatubas (UFMG 5428, 5496); Rio Vermelho (UFMG 6514); Ouro Branco (UFMG 9623)

Physalaemus maximus: BRASIL: MINAS GERAIS: Ouro Branco (UFMG 9621-26)

Physalaemus moreirae: BRASIL: SÃO PAULO: Bertioga (UFMG 2713-14, 20314); Ilha Grande (CFBH 9528); Ilhabela (CFBH 15168); Santo André (UFMG 6012, 9475-78, 9505, CFBH 29058, 29280, 37870); Ubatuba (CFBH 4283); PARANÁ: São Mateus do Sul (CFBH 37769)

Physalaemus nanus: BRASIL: SANTA CATARINA: Florianópolis (UFMG 4613); Indaial (UFMG 10105); Rancho Queimado (UFMG 6988)

Physalaemus nattereri: BRASIL: MINAS GERAIS: Ibiá (UFMG 12439); Igaratinga (UFMG 19012); Itacarambi e Manga (UFMG 8197); Goiatuba (UFMG 17970); Lassance (UFMG 19176); Uberlândia (UFMG 2342)

Physalaemus obtectus: BRASIL: ESPÍRITO SANTO: Cariacica (MBML 6056-60); Linhares (MBML 1963, 2027, 2031)

Physalaemus olfersii: BRASIL: MINAS GERAIS: Delfim Moreira (UFMG 18661); SÃO PAULO: Bertioga (UFMG 2741)

Physalaemus orophilus: BRASIL: MINAS GERAIS: Morro do Pilar (UFMG 8850), Mariana (UFMG 10420)

Physalaemus riograndensis: BRASIL: RIO GRANDE DO SUL: Cachoeira do Sul (CFBH 35019); Candiota (UFMG 20192-94); São Francisco de Paula (CFBH 79)

Physalaemus rupestris: BRASIL: MINAS GERAIS: Rio Preto (UFMG 13367, 13369, 13371)

Physalaemus santafecinus: ARGENTINA: SANTA FÉ: Santa Fé (MACN 45262-65)

Physalaemus signifer: BRASIL: BAHIA: Prado (UFMG 4961-62, 5559); Prado (UFMG 4962); MINAS GERAIS: Divino (UFMG 18591)

Physalaemus spiniger: BRASIL: SÃO PAULO: Cananéia (CFBH 319, 10693-94); Iguape (CFBH 308, 310); Ilha Comprida (CFBH 17119, 17121); Iporanga (CFBH 6330)

Physalaemus sp. nov. (aff. *rupestris*): BRASIL: MINAS GERAIS: Morro do Pilar (UFMG 10120, 12999-13000, 20187-8)

Physalaemus sp. nov (2): BRASIL: SANTA CATARINA: São Francisco do Sul (UFMG 8379, 8941)

Pleurodema bibroni: BRASIL: RIO GRANDE DO SUL: São Francisco de Paula (UFMG 16715)

Pleurodema diplolister: BRASIL: BAHIA: Pindobaçu (UFMG 6136); Umburanas (UFMG 6237-39); PERNAMBUCO: Buíque (AAGARDA 7803, 7806, 8334, 8424, 8427, 8581, 8621)

Pseudopaludicola falcipes: BRASIL: SANTA CATARINA: Uruguaiana (UFMG 2781)

Pseudopaludicola mineira: BRASIL: MINAS GERAIS: Buenópolis (UFMG 2867, 13933); Morro do Pilar (UFMG 8828); Santana do Pirapama (UFMG 9420); Santana do Riacho (UFMG 3537)

Pseudopaludicola mystacalis: BRASIL: (UFMG 6610, 6719, 6729, 6755)

Pseudopaludicola serrana: BRASIL: MINAS GERAIS: Augusto de Lima (UFMG 13565); Conceição do Mato Dentro (UFMG 11147-51)

Rupirana cardosoi: BRASIL: BAHIA: Mucugê (UFMG 4274)

Scythrophrys sawayae: BRASIL: PARANÁ: Piraquara (UFMG 20658)

Scythrophrys sp. nov.: BRASIL: SANTA CATARINA: Rancho Queimado (UFMG 20656-57)

Crossodactylodes bokermanni: BRASIL: ESPÍRITO SANTO: Castelo (UFMG UFMG 13769)

Crossodactylodes itambe: BRASIL: MINAS GERAIS: Santo Antônio do Itambé (UFMG 14036)

Crossodactylodes izecksohni: BRASIL: ESPÍRITO SANTO: Castelo (UFMG 13771); Santa Teresa (UFMG 14219)

Edalorhina perezii (MZUSP 62051)

Engystomops freibergeri: BRASIL: PARÁ: Vitória do Xingu (UFMG 18176-79)

Engystomops petersi (MZUSP 62051)

Leptodactylus furnarius: BRASIL: MINAS GERAIS: Prados (UFMG 2926)

Leptodactylus fuscus: BRASIL: MINAS GERAIS: Mariana (UFMG 9538)

Leptodactylus labyrinthicus: BRASIL: MINAS GERAIS: Rio Acima (UFMG 19276)

Leptodactylus latrans: BRASIL: BAHIA: Sebastião Laranjeiras (UFMG 4789); MINAS GERAIS: Barão de Cocais (UFMG 10675, 10679); Catas Altas (UFMG 7204); Conceição do Mato Dentro (UFMG 6368)

Leptodactylus mystacinus: BRASIL: MINAS GERAIS: Virginópolis (UFMG 15477); SANTA CATARINA: Caxambu do Sul (UFMG 3275)

Leptodactylus podicipinus: BRASIL: MINAS GERAIS: Januária (UFMG 6711)

Leptodactylus troglodytes: BRASIL: MINAS GERAIS: São João da Ponte (UFMG 20816)

Lithodytes lineatus: BRASIL: PARÁ: Vitória do Xingu (UFMG 18266)

Paratelmatoobius lutzii: BRASIL: SÃO PAULO: Itatiaia (MZUSP 94624, 94627)

Paratelmatoobius poecilogaster: BRASIL: SÃO PAULO: Bertiooga (UFMG 3240, 21319)

Musculatura, vísceras e osteologia:

Physalaemus aguirrei: BRASIL: ESPÍRITO SANTO: Linhares (CFBH 26259)

Physalaemus albifrons: BRASIL: BAHIA: Jacaraci (UFMG 4681); Pindobaçu (UFMG 6150-51)

Physalaemus albonotatus: BRASIL: MATO GROSSO DO SUL: Corumbá (UFMG 3604, 3624, 5658)

Physalaemus atlanticus: BRASIL: SÃO PAULO: Ubatuba (CFBH 4311)

Physalaemus barrioi: BRASIL: SÃO PAULO: São José do Barreiro (CFBH 30815)

Physalaemus biligonigerus: BRASIL: MATO GROSSO DO SUL: Corumbá (UFMG 15839-41); RIO GRANDE DO SUL: Santo Antônio (ZUEC 11469), Torres (ZUEC 20456-57)

Physalaemus bokermanni: BRASIL: SÃO PAULO: (CFBH 12897)

Physalaemus camacan: BRASIL: BAHIA: Ilhéus (CFBH 35729)

Physalaemus carrizorum: BRASIL: SANTA CATARINA: São Bento do Sul (UFMG 9874-75)

Physalaemus centralis: BRASIL: GOIÁS: Montes Claros de Goiás (UFMG 5276); MINAS GERAIS: Jaboticatubas (UFMG 5469, 5479); Varginha (UFMG 3736)

Physalaemus cicada: BRASIL: BAHIA: Jacaraci (UFMG 4685, 4694); MINAS GERAIS: Belo Horizonte (UFMG 7834); Itacarambi e Manga (UFMG 8191-92); Sebastião Laranjeiras (UFMG 4786)

Physalaemus crombiei: BRASIL: ESPÍRITO SANTO: Santa Teresa (UFMG 13723); MINAS GERAIS: Mariana (UFMG 10437); Santo Antônio do Itambé (UFMG 14750, 14811, 14814); São Gonçalo do Rio Abaixo (UFMG 11849, 11904, 11912)

Physalaemus cuqui: ARGENTINA (MACN 40953)

Physalaemus cuvieri: BRASIL: MINAS GERAIS: Barão de Cocais (UFMG 6582); Catas Altas (UFMG 5170, 7959); Conceição do Mato Dentro (UFMG 11131); Passa Vinte (UFMG 2659), Santana do Riacho (UFMG 10120)

Physalaemus deimaticus: BRASIL: MINAS GERAIS: Jaboticatubas (UFMG 14905); Morro do Pilar (UFMG 16771)

Physalaemus ephippifer: BRASIL: PARÁ: Vitória do Xingu (UFMG 18299, 18301); BAHIA: Ilhéus (ZUEC 17495)

Physalaemus erikae: BRASIL: BAHIA: Ilhéus (ZUEC 17495)

Physalaemus erythros: BRASIL: MINAS GERAIS: Barão de Cocais (UFMG 14938-39)

Physalaemus evangelistai: BRASIL: MINAS GERAIS: Santana do Riacho (UFMG 5587)

Physalaemus feioi: BRASIL: MINAS GERAIS: Caratinga (UFMG 13448); Divino (UFMG 18595); Simonésia (UFMG 12847, 12863)

Physalaemus henselii: BRASIL: RIO GRANDE DO SUL: Eldorado do Sul (UFMG 20192)

Physalaemus jordanensis: BRASIL: SÃO PAULO: Campos do Jordão (ZUEC 9741)

Physalaemus kroyeri: BRASIL: BAHIA: Jacaraci (UFMG 4757, 4825, 6161)

Physalaemus lateristriga: BRASIL: SANTA CATARINA: São Bento do Sul (UFMG 9836, 9873, 10176, 10186, 16666)

Physalaemus lisei: BRASIL: RIO GRANDE DO SUL: (UFMG 2679)

Physalaemus maculiventris: BRASIL: SÃO PAULO: Apiaí e Iporanga (CFBH 26731)

Physalaemus marmoratus: BRASIL: MINAS GERAIS: Curvelo (UFMG 2772, 2774); Jaboticatubas (UFMG 5428, 5496); Rio Vermelho (UFMG 6514)

Physalaemus maximus: BRASIL: MINAS GERAIS: Ouro Branco (UFMG 9623, 9626)

Physalaemus moreirae: BRASIL: SÃO PAULO: Bertoga (UFMG 2713, 20314); Santo André (UFMG 9475, 9478)

Physalaemus nanus: BRASIL: SANTA CATARINA: Florianópolis (UFMG 4613); Indaial (UFMG 10105); Rancho Queimado (UFMG 6988)

Physalaemus nattereri: BRASIL: MATO GROSSO DO SUL: Corumbá (UFMG 5650); MINAS GERAIS: Ibiá (UFMG 12439); Lassance (UFMG 19176); Uberlândia (UFMG 2342)

Physalaemus obtectus: BRASIL: ESPÍRITO SANTO: Cariacica (MBML 6060)

Physalaemus olfersii: BRASIL: MINAS GERAIS: Delfim Moreira (UFMG 18661); SÃO PAULO: Bertoga (UFMG 2741)

Physalaemus orophilus: BRASIL: MINAS GERAIS: Mariana (UFMG 10420); Morro do Pilar (UFMG 8850)

Physalaemus riograndensis: BRASIL: RIO GRANDE DO SUL: Candiota (UFMG 20193-94)

Physalaemus rupestris: BRASIL: MINAS GERAIS: Rio Preto (UFMG 13371)

Physalaemus santafecinus: ARGENTINA: SANTA FÉ: Santa Fé (MACN 45263-64)

Physalaemus signifer: BRASIL: BAHIA: Prado (UFMG 4961, 5559); MINAS GERAIS: Divino (UFMG 18591)

Physalaemus sp. nov. (aff. *rupestris*): BRASIL: MINAS GERAIS: Morro do Pilar (UFMG 10120)

Physalaemus sp. n.(2): BRASIL: SANTA CATARINA: São Francisco do Sul (UFMG 8941)

Physalaemus spiniger: BRASIL: SÃO PAULO: Iporanga (CFBH 6330)

Crossodactylodes bokermanni: BRASIL: ESPÍRITO SANTO: Castelo (UFMG 13769)

Crossodactylodes itambe: BRASIL: MINAS GERAIS: Santo Antônio do Itambé (UFMG 14036)

Crossodactylodes izecksohni: BRASIL: ESPÍRITO SANTO: Castelo (UFMG 13771); Santa Teresa (UFMG 14219)

Edalorhina perezi (MZUSP 62051)

Engystomops petersi (MZUSP 62051)

Leptodactylus fuscus: BRASIL: MINAS GERAIS: Mariana (UFMG 9538)

Leptodactylus labyrinthicus: BRASIL: MINAS GERAIS: Rio Acima (UFMG 19276)

Leptodactylus latrans: BRASIL: BAHIA: Sebastião Laranjeiras (UFMG 5079); Conceição do Mato Dentro (UFMG 6368)

Leptodactylus podicipinus: BRASIL: BAHIA: Januária (UFMG 6711)

Paratelmatoobius lutzi: BRASIL: SÃO PAULO: Itatiaia (MZUSP 94624, 94627)

Paratelmatoobius poecilogaster: BRASIL: SÃO PAULO: Bertoga (UFMG 3240, 21319)

Pleurodema diplolister: BRASIL: BAHIA: Umburanas (UFMG 6239)

Pseudopaludicola falcipes: BRASIL: SANTA CATARINA: Uruguaiana (UFMG 2781)

Pseudopaludicola mystacalis: BRASIL: (UFMG 6755)

Rupirana cardosoi: BRASIL: BAHIA: Mucugê (UFMG 4274)

Scythrophrys sawayae: BRASIL: BAHIA: Piraquara (UFMG 20658)

Scythrophrys sp. nov.: BRASIL: SANTA CATARINA: Rancho Queimado (UFMG 20656)

APÊNDICE II: Números de acesso do GenBank das sequências moleculares utilizadas na análise de evidência total.

Taxon	Voucher	Localidade	Sequências 12S-tRNA^{Val}-16S	RAG-1	Referência
<i>Physalaemus</i>					
<i>Physalaemus aguirrei</i>	CFBH 19457	Linhares, Espírito Santo, Brasil	KP146065	KP145999	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus albifrons</i>	CFBH 16137	Viçosa do Ceará, Ceará, Brasil	KP146010	KP145948	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus albonotatus</i>	ZUEC 16418	Lambari D'Oeste, Mato Grosso, Brasil	KP146051		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus atlanticus</i>	CFBH 7918	Ubatuba, São Paulo, Brasil	KP145927/40		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus barrioi</i>	ZUEC 18146	Serra da Bocaina, São Paulo, Brasil	KP146067		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus biligonigerus</i>	DCC-NB 12	Finca San Ramón, Salta, Argentina	DQ337212		Ron <i>et al.</i> (2006)
<i>Physalaemus biligonigerus</i>	ZUEC 13155	Cuiabá, Mato Grosso, Brasil	KP146108	KP145988	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus bokermanni</i>	ZUEC 17448	Bertioga, São Paulo, Brasil	KP145928/36		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus camacan</i>	ZUEC 17467	Ilhéus, Bahia, Brasil	KP146094	KP145962	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus carrizorum</i>	LGE 8877	Parque P. Moconá, Misiones, Argentina	KP146072	KP145953	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus centralis</i>	ZUEC 13697	Vitória Brasil, São Paulo, Brasil	KP146061	KP145968	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus centralis</i>	ZUEC 13375	Porto Nacional, Tocantins, Brasil	KP146062		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus cicada</i>	CFBH 19395	Novas Russas, Ceará, Brasil	KP146064	KP146000	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus cicada</i>	CFBH 22682	Contendas do Sincorá, Bahia, Brasil	KP146063	KP145996	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus crombiei</i>	CFBH 14910	Sooretama, Espírito Santo, Brasil	KP146095		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus cuqui</i>	LGE 8874	2.5 Km SE de Aguas Blancas, Salta, Argentina	KP146071		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
“ <i>Physalaemus cuvieri</i> ” (Linhagem 1A)	ZUEC 17897	Caruaru, Pernambuco, Brasil	KP146012		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
“ <i>Physalaemus cuvieri</i> ” (Linhagem 1B)	ZUEC 13083	Crateús, Ceará, Brasil	KP146013		Lourenço <i>et al.</i> (2015)

<i>“Physalaemus cuvieri”</i> (Linhagem 2)	ZUEC 13366	Uberlândia, Minas Gerais, Brasil	KP146027	KP145975	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>“Physalaemus cuvieri”</i> (Linhagem 3)	ZUEC 14691	Porto Nacional, Tocantins, Brasil	KP146047	KP145970	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus deimaticus</i>	ZUEC 21193	Diamantina, Minas Gerais, Brasil	KP146100		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus deimaticus</i>	UFMG 14861	P. E. do Pico do Itambé, Minas Gerais, Brasil	MG663309		***
<i>Physalaemus deimaticus</i>	UFMG 20113	Morro do Pilar, Minas Gerais, Brasil	MG651917		***
<i>Physalaemus ephippifer</i>	ZUEC 13737	Belém, Pará, Brasil	KP146004	KP145972	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus erikae</i>	CFBH 32463	Uruçuca, Bahia, Brasil	KP146008		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus erythros</i>	UFMG 15618	Barão de Cocais, Minas Gerais, Brasil	MG663316		***
<i>Physalaemus erythros</i>	UFMG 5563	Catas Altas, Minas Gerais, Brasil	MG663318		***
<i>Physalaemus erythros</i>	UFMG 1415	Ouro Preto, Minas Gerais, Brasil	MG663321		***
<i>Physalaemus evangelistai</i>	MNRJ 55103	Catas Altas, Minas Gerais, Brasil	KP146069		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus feioi</i>	ZUEC 16247	Viçosa, Minas Gerais, Brasil	KP146080		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus fischeri</i>	MR 005	Calabozo, Guárico, Venezuela	DQ337211		Ron <i>et al.</i> (2006)
<i>Physalaemus gracilis</i>	AJC 95-228	Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil	AY680272		Pauly <i>et al.</i> (2004)
<i>Physalaemus gracilis</i>	MNHN 9511	Bañado de los Oliveras, Treinta y Tres, Uruguay	KP146073	KP145979	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus henselii</i>	MNHN 9512	Ruta 5, km 492, Pueblo Madera, Rivera, Uruguay	KP145924/34		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus jordanensis</i>	CFBH 9903	Campos do Jordão, São Paulo, Brasil	KP146070	KP145997	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus kroyeri</i>	ZUEC 17481	Ilhéus, Bahia, Brasil	KP146006	KP145941	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus lateristriga</i>	ZUEC 18207	Iporanga, São Paulo, Brasil	KP146077	KP145946	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus lisei</i>	CFBH 8527	São Francisco de Paula, Rio Grande do Sul, Brasil	KP146074	KP145961	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus lisei</i>	LGE 8878	Gravataí, Rio Grande do Sul, Brasil	KP146075	KP145947	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus maculiventris</i>		Santa Teresa, Espírito Santo, Brasil	KP146091		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus maculiventris</i>	MZUSP 132062	Bananal, São Paulo, Brasil	KP145929/37	KP145978	Lourenço <i>et al.</i> (2015)

<i>Physalaemus maculiventris</i>	MZUSP 132064	Bananal, São Paulo, Brasil	KP146092		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus marmoratus</i>	ZUEC 13399	São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil	KP146083	KP145957	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus maximus</i>	UFMG 9625	Ouro Branco, Minas Gerais, Brasil	KP146079		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus moreirae</i>	CFBH 19491	Guarujá, São Paulo, Brasil	KP146089		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus moreirae</i>	CFBH 15162	Ilha Bela, São Paulo, Brasil	KP146087	KP145971	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus nanus</i>	CFBH 9377	Anitápolis, Santa Catarina, Brasil	KP146096		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus nattereri</i>	ACJ 95267	Luis Antônio, São Paulo, Brasil	DQ337208		Ron <i>et al.</i> (2006)
<i>Physalaemus nattereri</i>	ZUEC 11475	São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil	KP146102		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus nattereri</i>	ZUEC 17506	Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, Brasil	KP146103		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus obtectus</i>	MNRJ 35018	Linhares, Espírito Santo, Brasil	KP146093		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus olfersii</i>	ZUEC 16250	Teresópolis, Rio de Janeiro, Brasil	KP146078	KP145993	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus riograndensis</i>	LGE 8879	5 Km N from Profundidad, Misiones, Argentina	KP146082		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus rupestris</i>	UFMG 13368	P.E. Ibitipoca, Lima Duarte, Minas Gerais, Brasil	MG651898		***
<i>Physalaemus rupestris</i>	UFMG 13369	P.E. Ibitipoca, Lima Duarte, Minas Gerais, Brasil	KP 146099		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus</i> sp. n. (aff. <i>rupestris</i>)	UFMG 12999	Santana do Riacho, Minas Gerais, Brasil	MG651900		***
<i>Physalaemus</i> sp. n. (aff. <i>rupestris</i>)	UFMG 16779	Santana do Riacho, Minas Gerais, Brasil	MG651904		***
<i>Physalaemus santafecinus</i>	LGE 8880	Santa Fé, La Capital, Argentina	KP146081	KP145994	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus signifer</i>	CFBH-T 7508	Congonhas do Campo, Minas Gerais	KP146090	KP145944	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Physalaemus signifer</i>	TNHC 60073	Seropédica, Rio de Janeiro, Brasil	DQ337209		Ron <i>et al.</i> (2006)
<i>Physalaemus spiniger</i>	ZUEC 14516	Curitiba, Paraná, Brasil	KP146097		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
Outros Leiuperinae					
<i>Edalohina perezii</i>	ZUEC 9623	Alto Juruá, state of Acre, Brazil	KP146104	KP145992	
<i>Engystomops freibergeri</i>	ZUEC 9641	Foz do Tejo, Acre, Brasil	KP146105	GQ375520	Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Engystomops petersi</i>	QCAZ 34940	Puyo, Pastaza, Ecuador	FJ668193		Targueta <i>et al.</i> (2010)
<i>Pleurodema diplolister</i>	ZUEC 13422	Vassouras, Barreirinhas, Maranhão, Brasil	KP146101		Lourenço <i>et al.</i> (2015)

<i>Pleurodema brachyops</i>	AMNH 139118	Aishalton, Guiana	AY843733	AY844503	Faivovich <i>et al.</i> (2005)
<i>Pseudopaludicola falcipes</i>	MACN 38647	Corrientes, Argentina	AY843741		Faivovich <i>et al.</i> (2005)
<i>Pseudopaludicola saltica</i>	ZUEC 14239	Chapada dos Guimarães, Mato Grosso, Brasil	KJ147002		Veiga-Menoncello <i>et al.</i> (2014)
Leptodactylinae					
<i>Leptodactylus latrans</i>	MACN 38648	Loma Verde, Escobar, Buenos Aires, Argentina	AY843688	AY844470	Faivovich <i>et al.</i> (2005)
<i>Leptodactylus fuscus</i>	AMNH 139088	Aishalton, Guiana	DQ283404		Frost <i>et al.</i> (2006)
<i>Leptodactylus podicipinus</i>	LHUF CG 0244	Corumbá, Mato Grosso do Sul, Brasil	KC477245/0094		Pereira <i>et al.</i> (2015)
Paratelmatobiinae					
<i>Crossodactylodes izecksohni</i>	UFMG 13747	Santa Teresa, Espírito Santo, Brasil	KP146086		Lourenço <i>et al.</i> (2015)
<i>Crossodactylodes bokermanni</i>	MNRJ 38412	Espírito Santo, Brasil	KC593359		Fouquet <i>et al.</i> (2013)
<i>Paratelmatobius cardosoi</i>	CFBH 3267	Paranapiacaba, São Paulo, Brasil	EU224404		Lourenço <i>et al.</i> (2008)
<i>Paratelmatobius poecilogaster</i>	CFBH 3253	Paranapiacaba, São Paulo, Brasil	EU224400		Lourenço <i>et al.</i> (2008)
<i>Rupirana cardosoi</i>	FJ 117/JC 1112	Mucuge, Bahia, Brasil	KC593361	KC604034	Fouquet <i>et al.</i> (2013)
<i>Scythrophrys sawayae</i>	CFBH 3185	São Bento do Sul, Santa Catarina, Brasil	EU224417		Lourenço <i>et al.</i> (2008)
<i>Scythrophrys</i> sp.		Rancho Queimado, Santa Catarina, Brasil	EU224418/19		Lourenço <i>et al.</i> (2008)
Cycloramphidae					
<i>Cycloramphus boraceiensis</i>	CFBH 5757	Picinguaba, Ubatuba, São Paulo, Brasil	DQ283097		Frost <i>et al.</i> (2006)
<i>Zachaenus parvulus</i>	CFBH 10120	Petrópolis, Rio de Janeiro, Brasil	JQ966107		Lourenço <i>et al.</i> (2008)

^a Topótipo, *** Sequências gentilmente cedidas por L. B. Lourenço

