

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**CAMILA MIRANDA MOREIRA**

**VARIAÇÃO GEOGRÁFICA NO CANTO DE ANÚNCIO DE *Aplastodiscus*  
*perviridis* Lutz, 1950 (ANURA: HYLIDAE)**

**DOIS VIZINHOS**

**2022**

**CAMILA MIRANDA MOREIRA**

**VARIAÇÃO GEOGRÁFICA NO CANTO DE ANÚNCIO DE *Aplastodiscus perviridis* Lutz, 1950 (ANURA: HYLIDAE)**

**Geographical variation in the advertisement call of *Aplastodiscus perviridis* Lutz, 1950 (Anura: Hylidae)**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito para obtenção do título de Licenciada em Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientador: Rodrigo Lingnau

Coorientador: Caio Marinho Mello

**DOIS VIZINHOS**

**2022**



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**CAMILA MIRANDA MOREIRA**

**VARIAÇÃO GEOGRÁFICA NO CANTO DE ANÚNCIO DE *Aplastodiscus*  
*perviridis* Lutz, 1950 (ANURA: HYLIDAE)**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título de  
Licenciada em Licenciatura em Ciências Biológicas da  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
(UTFPR).

Data de aprovação: 24 de junho de 2022

---

Rodrigo Lingnau  
Doutor em Zoologia  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Vinicius Guerra Batista  
Doutor em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais  
Universidade Federal do Mato Grosso

---

Priscilla Guedes Gambale  
Doutora em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais  
Faculdade de São Miguel do Iguaçu

**DOIS VIZINHOS**

**2022**

Dedico este trabalho ao meu pai, por todo carinho, esforço e dedicação.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, José Antonio da Costa Moreira e Roseane Araújo Miranda Moreira, que mesmo distantes, sempre me incentivaram e apoiaram incondicionalmente durante todos esses anos, sem vocês eu não teria chegado até aqui, serei eternamente grata, amo vocês. Da mesma forma, aos meus irmãos Antonio Caio Miranda Moreira e Antonio Lucas Miranda Moreira.

Ao meu orientador, Rodrigo Lingnau, que sem ao menos me conhecer, me aceitou como aluna no ano de 2019, e me fez cair de paraquedas nesse mundo da bioacústica de anuros (saiba que eu adorei). Obrigada pelas conversas, caronas e principalmente pelas correções e ensinamentos, eles foram essenciais para minha formação acadêmica.

Ao meu coorientador, Caio Marinho Mello, por ter aceitado o meu convite, eu fiquei muito feliz e saiba que a tua coorientação foi essencial neste trabalho. Muito obrigada pelas conversas e pelas palavras de entusiasmo, você é um ser humano que inspira por ter esse espírito otimista, prestativo e por transmitir uma energia tão boa e leve.

Agradeço ao professor Ariovaldo Antônio Giaretta da Universidade Federal de Uberlândia, que disponibilizou seus arquivos sonoros gravados nos estados de São Paulo e Minas Gerais.

Agradeço ao Rodrigo Lingnau e ao Caio Marinho Mello por terem me enviado as gravações dos estados de Santa Catarina e Paraná respectivamente.

Agradeço ao Axel Kwet por ter disponibilizado de forma muito gentil os seus arquivos sonoros do estado do Rio Grande do Sul.

À Camila Fernanda Moser, por ter esclarecido algumas de minhas dúvidas sobre o software Raven e por ter me ensinado a gerar no software R os oscilogramas e espectrogramas. MUITÍSSIMO obrigada, Camila!

Aos amigos antigos e mais novos que conheci durante este tempo, pela convivência, amizade e boas conversas.

Aos membros da banca examinadora pelas suas valiosas contribuições.

Por fim, à Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Dois Vizinhos, que oportunizou um ensino de qualidade, e ao seu corpo docente, pelos preciosos ensinamentos e incentivos à minha formação acadêmica.

## RESUMO

Os sinais acústicos representam a principal forma de comunicação da maioria das espécies de anuros. O canto de anúncio é a vocalização mais frequentemente emitida pelos machos durante o período reprodutivo. As propriedades do canto de anúncio podem ser influenciadas por fatores bióticos e abióticos, esses fatores podem variar entre os locais e por conseguinte, a variação do canto pode ocorrer. Estudos acerca da variação geográfica no canto de anúncio de anuros são limitados. Dessa forma, objetivaram-se com este estudo verificar a existência de variação nos parâmetros acústicos do canto de anúncio de *Aplastodiscus perviridis* ao longo de sua distribuição geográfica no Brasil, e avaliar a influência da temperatura do ar nos parâmetros temporais do canto de anúncio desta espécie. Foram obtidas 27 gravações de *A. perviridis* de cinco estados (MG, SP, PR, SC e RS). As análises bioacústicas foram realizadas através do software Raven Pro e as análises estatísticas foram realizadas através do software R. Para testar a diferença nos parâmetros acústicos entre as diferentes populações, foi realizado uma ANOSIM com índice de Bray-Curtis, e um NMDS para evidenciar a formação dos grupos. E para avaliar a influência da temperatura do ar nos parâmetros acústicos temporais, foi realizado uma análise de regressão linear. Não houve influência da temperatura do ar sobre os parâmetros temporais do canto de anúncio. Contudo, verificou-se diferenças significativas nos parâmetros acústicos entre as populações de diferentes localidades ( $p < 0,001$ ). Acredita-se que esta diferença esteja relacionada à variação geográfica. Todavia, considerando que estudos acerca da variação do canto em diversas espécies de anuros ainda são limitados, recomenda-se que mais trabalhos sejam conduzidos para investigar as diferenças nos cantos de anúncio, pois podem informar possíveis espécies crípticas, especialmente considerando aquelas com amplas distribuições geográficas. Este trabalho indicou a formação de grupos de *A. perviridis*, portanto, estudos integrados de genética e morfologia são necessários, uma vez que podem estabelecer a existência de mais diferenças populacionais.

**Palavras-chave:** vocalização; parâmetros acústicos; espécies crípticas; brasil.

## ABSTRACT

Acoustic signals represent the main form of communication in most species of anurans. The advertisement call is the vocalization most frequently emitted by males during the reproductive period. The properties of the advertisement call can be influenced by biotic and abiotic factors, these factors can vary between sites, and then, calls variation can occur. Studies of anuran advertisement call geographic variation are limited. Thus, this study aimed to verify the variation existence in the acoustic parameters of the advertisement call from *Aplastodiscus perviridis* throughout the geographic distribution in Brazil, and to evaluate the influence of air temperature on the temporal parameters of the advertisement call from this species. We obtained 27 recordings of *A. perviridis* from five states (MG, SP, PR, SC and RS). Bioacoustic analyses were performed using Raven Pro software, and statistical analyses were performed using R software. To test the difference in acoustic parameters between the different populations, an ANOSIM was performed with Bray-Curtis index, and an NMDS to highlight the formation of the groups. And to evaluate the influence of air temperature on temporal acoustic parameters, a linear regression analysis was performed. There was no influence of air temperature on the temporal parameters of advertisement call. However, there were significant differences in the acoustic parameters between populations from different locations ( $p < 0,001$ ). This difference is believed to be related to geographic variation. However, considering that studies on song variation in several anuran species are still limited, it is recommended that further work be conducted to investigate differences in advertisement call, as they may inform possible cryptic species, especially considering those with wide geographic distributions. This work indicated the formation of groups of *A. perviridis*, therefore, integrated studies of genetics and morphology are needed, as they may establish the existence of further population differences.

**Keywords:** vocalization; acoustic parameters; cryptic species; brazil.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	8
2	REVISÃO DE LITERATURA	10
2.1	Comunicação acústica	10
2.2	Anfíbios	10
2.3	Comunicação acústica nos anfíbios anuros	10
2.4	Variação geográfica	12
2.5	<i>Aplastodiscus perviridis</i>	12
3	MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.1	Coleta de dados	14
3.2	Análise dos cantos	16
3.3	Análise estatística	16
4	RESULTADOS	18
5	DISCUSSÃO	22
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	24
	REFERÊNCIAS	25



## 1 INTRODUÇÃO

A bioacústica consiste no estudo da comunicação dos seres vivos através de sinais sonoros. Este ramo da ciência teve um maior desenvolvimento a partir da criação e modernização de ferramentas que facilitavam a obtenção, armazenamento e análise dos sons (TUBARO, 1999). Estudos em bioacústica são importantes e necessários à compreensão da diversidade de anfíbios anuros, pois fornecem dados para estudos sobre comportamental animal, ecologia, evolução, conservação, taxonomia e sistemática, bem como auxiliam na identificação e na descrição correta de espécies crípticas (GUERRA *et al.*, 2018; CONTE *et al.*, 2010).

A emissão de sinais acústicos representa a principal forma de comunicação da maioria das espécies de anfíbios anuros, e o canto de anúncio é, de longe, a vocalização mais estudada (TOLEDO *et al.*, 2015), pois além de ser a mais comumente emitida pelos machos, está fortemente sujeita à seleção sexual, portanto, possui informações filogenéticas que podem ser essenciais em estudos evolutivos (GINGRAS *et al.*, 2013). As características acústicas que são codificadas no canto de anúncio dos anuros, estão sujeitas a alterações por influência de fatores bióticos e abióticos (LINGNAU; BASTOS, 2007; KÖHLER *et al.*, 2017). Esses fatores variam entre as localidades, portanto, a variação do canto entre as populações pode ocorrer (FORTI *et al.*, 2017; FORTI; LINGNAU; BERTOLUCI, 2017).

Estudos sobre a variação no canto de anúncio de diversas espécies de anuros ainda são limitados devido aos desafios logísticos na coleta da quantidade e qualidade de dados necessários (WEAVER; CALLAGHAN; ROWLEY, 2020). E dentre as espécies, destaca-se o anuro *Aplastodiscus perviridis* (Lutz, 1950), que apesar do seu canto de anúncio ter sido descrito pela primeira vez por Bokermann (1967), o número de indivíduos e de cantos que foram analisados, são desconhecidos na literatura. Sendo assim, é indispensável trabalhos sobre o repertório vocal e a ocorrência de variações nas vocalizações desta espécie, pois além de contribuir para uma melhor determinação taxonômica, podem criar fundamentos para hipóteses ecológicas sobre mudanças nas características acústicas com o passar do tempo (CASTELLANO *et al.*, 2002). Dessa forma, os objetivos desse trabalho foram (1) verificar a existência de variação nos parâmetros acústicos temporais (duração do canto, intervalo entre cantos e taxa de repetição) e espectrais (número de harmônicos, frequência mínima e máxima e frequência dominante) do canto de anúncio de *A. perviridis* ao longo de

sua distribuição geográfica no Brasil, e (2) avaliar a influência dos fatores abióticos (temperatura) nos parâmetros temporais do canto de anúncio desta espécie.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Comunicação acústica**

A comunicação é primordial no comportamento animal, membros dos grupos sociais comunicam-se uns com os outros, e em geral, indivíduos de espécies diferentes fazem o mesmo (SCHAEFER, 2010). Nesse sentido, as vocalizações são emitidas por inúmeros vertebrados como meio de comunicação nos níveis intraespecífico e interespecífico e constituem uma parcela importante das interações entre as espécies, caracterizando a principal forma de transmissão de informações em vários grupos animais e em especial, aos anfíbios anuros (GERHARDT; HUBER, 2002; BATISTA *et al.*, 2015).

### **2.2 Anfíbios**

Em geral, os anfíbios são animais que possuem ampla distribuição geográfica, ocorrem em todos os continentes, exceto a Antártida (WELLS, 2007). Atualmente são conhecidas 8461 espécies de anfíbios em todo o mundo (FROST, 2022), e o Brasil é o país que possui a maior diversidade com 1188 espécies de anfíbios, sendo que 1144 compreendem espécies de anuros (SEGALLA *et al.*, 2021). Essa acentuada riqueza está em grande parte relacionada às extensões continentais, à variação de altitude e a vasta variedade de habitats que estão presentes nos diferentes biomas brasileiros, que viabilizam ambientes adequados para as populações de anuros (PEREIRA; POMBAL; ROCHA, 2018).

### **2.3 Comunicação acústica nos anfíbios anuros**

A atividade vocal é uma característica típica, diversa e fundamental desses animais, e que muito provavelmente surgiu no início da história evolutiva do grupo, pois está presente na maioria das espécies (GERHARDT; HUBER, 2002). Magrini (2013) corrobora a relevância da acústica para os anuros, tornando evidente a disponibilidade de estruturas vocais bem desenvolvidas, aptas a gerar sons diversos em conjunturas sociais e ecológicas distintas. Os sinais acústicos podem transmitir para o ouvinte duas características do emissor: a localização e o tamanho individual,

visto que a frequência do canto é inversamente proporcional ao tamanho do animal (TOLEDO *et al.*, 2015). Os anuros possuem a capacidade de emitir diversos tipos de vocalizações, como os cantos de anúncio, cantos de encontro, cantos de corte, cantos de soltura, cantos agressivos, dentre outros, e esses cantos estão associados a diversos contextos sociais, como a defesa do território, atração pelo parceiro e principalmente à seleção e reprodução sexual (TOLEDO *et al.*, 2015).

As vocalizações mais frequentemente empregadas pelos anuros são os cantos de anúncio, pois possuem informações temporais e/ou espectrais que são importantes para o reconhecimento da espécie (SILVA; MARTINS; ROSSA-FERES, 2008). Os cantos de anúncio são emitidos pelos machos para atrair as fêmeas da mesma espécie para reprodução, e as fêmeas utilizam características do canto como volume, tom e complexidade para selecionar o melhor parceiro (WEAVER; CALLAGHAN; ROWLEY, 2020), sendo assim, esses cantos são espécie-específicos e atuam como mecanismo pré-zigótico de isolamento reprodutivo (BATISTA *et al.*, 2015; ZINA; HADDAD, 2006). O canto de anúncio está suscetível a diversas pressões seletivas, uma dessas ocorre no momento da escolha do parceiro pela fêmea, tal ação é previsível e possui a finalidade de diminuir a variabilidade dos cantos de anúncio, e estabilizar os padrões que são observados no repertório vocal dos machos. Entretanto, a seleção sexual presume que os machos emitem cantos individualmente perceptíveis para aprimorar o seu próprio sucesso reprodutivo (TESSAROLO *et al.*, 2016).

Diversos estudos demonstram alterações por influência de fatores sociais e ambientais em algumas características acústicas dos anuros (AMORIM *et al.*, 2009; COSTA; DIAS, 2019), tais como, número de pulsos, taxa de repetição de nota, duração do canto, e frequência dominante (GUIMARÃES; BASTOS, 2003; ZINA; HADDAD, 2005). Os parâmetros acústicos temporais, como a taxa de repetição e a duração do canto são propriedades tipicamente dinâmicas e podem variar de acordo com o contexto social dos machos e condições ambientais, como a temperatura do ar (FORTI *et al.*, 2017; FORTI; LINGNAU; BERTOLUCI, 2017). Essas mudanças são previstas para animais ectotérmicos como os anfíbios, pois a temperatura corporal depende da temperatura ambiente (BOSCHETTI *et al.*, 2019). Em contrapartida, os parâmetros acústicos espectrais, como as frequências dominantes são tipicamente estáticas e podem sofrer influência do tamanho corporal do macho ou com a distância geográfica entre as populações (SMITH; HUNTER, 2005).

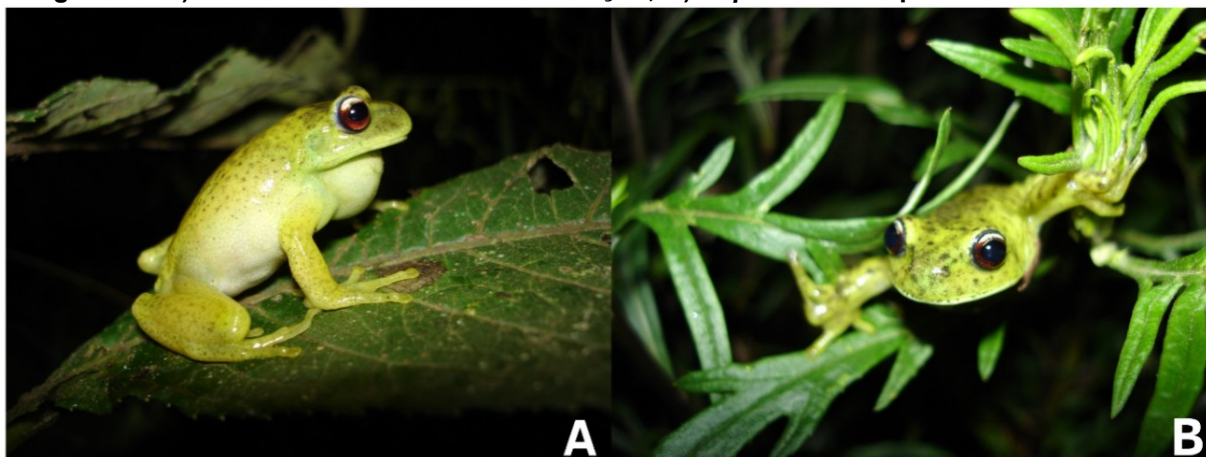
## 2.4 Variação geográfica

A evolução da variabilidade de sinais acústicos intraespecíficos é limitada devido a importância do reconhecimento das espécies (TESSAROLO *et al.*, 2016). No entanto, a variação nos caracteres do canto é contínua entre propriedades estáticas e dinâmicas por conta da existência de diferentes pressões de seleção nas vocalizações (SMITH; HUNTER, 2005). A variação geográfica no canto de anúncio é frequentemente observada entre populações coespecíficas, e recebe considerável atenção uma vez que as propriedades acústicas desempenham um papel crucial na atividade reprodutiva desses animais (BARAQUET *et al.*, 2015). Inúmeras hipóteses têm sido sugeridas para compreender a variação geográfica nos cantos dos anuros, como mudanças em condições ambientais, seleção sexual, variação na transmissão do som no ambiente, mudanças pleiotrópicas com variação geográfica no tamanho corporal das espécies, e isolamento por distância (TESSAROLO *et al.*, 2016). Em espécies que apresentam ampla distribuição no que tange às suas habilidades de dispersão, o isolamento por distância ocorre, podendo gerar inclinações graduais nos caracteres dos cantos (CASTELLANO *et al.*, 2000). Desse modo, propriedades do canto que são tipicamente estáticas ou estereotipadas, podem ter distintos padrões de variação geográfica (BERNAL; GUARNIZO; LÜDDECKE, 2005).

## 2.5 *Aplastodiscus perviridis*

*Aplastodiscus perviridis* (Lutz, 1950) é um anuro arborícola pertencente à família Hylidae. Apresenta um aspecto geral robusto, possui o dorso verde-escuro, verde-claro ou verde-amarelado com frequentes cromatóforos negros espalhados uniformemente por toda a região dorsal, em quantidades variáveis, ventre branco-esverdeado e íris bicolor, na parte inferior dois terços vermelha e superior um terço branca (GARCIA; CARAMASCHI; KWET, 2001). Possui ampla distribuição geográfica, ocorre no sul e sudeste do Brasil e extremo oeste da Argentina. Vocaliza durante a noite ao longo de brejos e riachos em áreas abertas, empoleirado em folhas de grama ou arbustos (Figura 1), porém também pode utilizar locais com solo úmido, coberto por vegetação (HADDAD; FAIVOVICH; GARCIA, 2005).

Figura 1 – A) Macho em atividade de vocalização; B) *A. perviridis* empoleirado em arbustos



Fonte: Lingnau (2006)

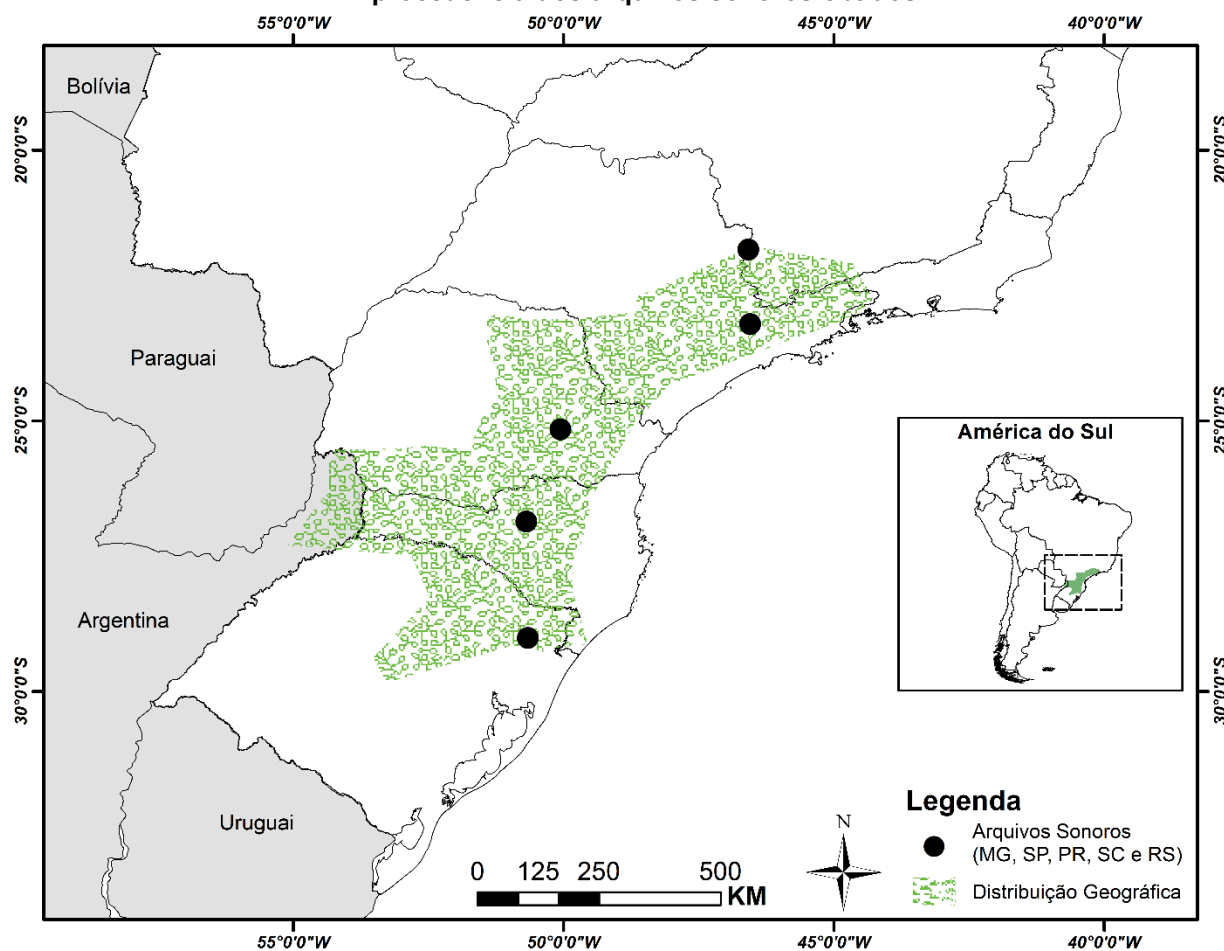
Durante o período reprodutivo, *Aplastodiscus perviridis* utiliza riachos com água de fluxo lento, e seus ovos são depositados em ninhos subterrâneos construídos pelos machos (HADDAD; FAIVOVICH; GARCIA, 2005). Sua atividade reprodutiva ocorre do mês de novembro e se expande ao mês de fevereiro (GARCIA; CARAMASCHI; KWET, 2001). O canto de anúncio de *A. perviridis* possui semelhança a um apito curto, é constituído por uma única nota de estrutura harmônica não pulsada, a frequência dominante está situada no segundo harmônico e possui tênue modulação ascendente que vai de 0,09 a 0,19 kHz (PEDERASSI *et al.*, 2022).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Coleta de dados

Foram obtidas 27 gravações de *Aplastodiscus perviridis*. Todas as gravações foram cedidas e enviadas em formato “WAV” através de correio eletrônico por pesquisadores (mencionados nos agradecimentos). Para as gravações realizadas no estado de São Paulo e Minas Gerais, foram utilizados gravadores digitais Marantz (PMD 670 ou 671) ou M-áudio Micro-Track II ou Boss 864. Acoplados aos gravadores, foram utilizados microfones direcionais Sennheiser (ME-66 ou ME-67). Os registros sonoros estão depositados na Coleção AAG-UFU – Ariovaldo Antônio Giaretta da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG. Para as gravações realizadas no estado de Santa Catarina, foi utilizado o gravador Marantz (PMD-222) acoplado ao microfone Sony (ECM-MS907). As gravações estão depositadas na Coleção Sonora da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, PR. Para as gravações feitas no estado do Paraná, foi utilizado o gravador Marantz (PMD-221) acoplado ao microfone direcional Yoga (HT81). As gravações estão depositadas na Coleção Sonora da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Francisco Beltrão, PR. E para as gravações realizadas no estado do Rio Grande do Sul, foi utilizado o gravador Sony (WM-D6C) e o microfone Sennheiser (ME-66). Os arquivos sonoros estão depositados na Fonoteca Zoológica na seção do Museu Nacional de Ciências Naturais de Madrid, Espanha. Para todos os gravadores foram utilizados uma taxa de amostragem de 44.1 KHZ e precisão de 16 bits. Os arquivos sonoros provenientes de estados diferentes (Figura 2), possuíam informações com a localidade, código do arquivo e suas respectivas temperaturas do ar (Tabela 1).

**Figura 2 – Mapa mostrando a distribuição geográfica de *Aplastodiscus perviridis* e estados de procedência dos arquivos sonoros obtidos**



**Tabela 1 – Dados dos arquivos sonoros**

Localidade	Código do arquivo	Temperatura do ar para cada arquivo
Atibaia/SP	SP1bAAGm671, SP2bFSA_AAGb, SP3dIAH_AAGm67, SP4aAAGm671, SP5aAAGm671	20.3, 20.3, 20.3, 23, 23
Poços de Caldas/MG	MG1cAAGm671, MG2bAAGm671, MG3bAAGm671, MG4bAAGM670, MG6aAAGm671	18.5, 18.5, 19, 19, 21
Ponta Grossa/PR	ApA_PEVV, ApF_PEVV, ApD_PEVV, Ap_PEVV Rcp, Ap_PEVV Rbm	17, 18.3, 18, 20, 16.7
Lebon Régis/SC	CSUTF003 Fita5, CSUTF004 Fita5, CSUTF007 Fita7, CSUTF003Fita17, CSUTF005Fita17, CSUTF012Fita29	11.4, 11.4, 18.1, 15.2, 14.7, 18.4
São Francisco de Paula/RS	AKFr2A04, AKFr2B02, AKFr2B04, AKFr3A03, AKFr3B03, AKFr7B27	18, 20, 17.5, 14.5, 18, 18.5

Fonte: Autoria própria



### 3.2 Análise dos cantos

Foram analisados 270 cantos de anúncio de 27 machos de *Aplastodiscus perviridis* (10 cantos de cada macho). Para a mensuração dos caracteres temporais e espectrais foi utilizado o software Raven<sup>®</sup> Pro, versão 1.6 para Windows (BIOACUSTICS RESEARCH PROGRAM, 2011). Os parâmetros acústicos temporais analisados foram os seguintes: duração do canto (s), intervalo entre cantos (s) e taxa de repetição (cantos/min). E os parâmetros acústicos espectrais analisados foram: frequência mínima (Hz), frequência máxima (Hz), frequência dominante (Hz) e número de harmônicos. A taxa de repetição foi obtida contando sempre os cantos iniciais cronometrado em um minuto. As medições espectrais, com exceção do número de harmônicos, foram obtidas selecionando três variáveis na opção “escolher medições” no programa Raven: (1) baixa frequência, (2) alta frequência e (3) pico de frequência.

Os termos bioacústicos foram utilizados de acordo com as definições propostas por Köhler *et al.* (2017). Para ilustrar os cantos de anúncio, foram gerados oscilogramas e espectrogramas no software estatístico R, versão 4.1.3 (R CORE TEAM, 2022), com largura da janela de 512 amostras, 90% de sobreposição e DFT de 512 amostras. Foram utilizados os pacotes Tuner, versão 1.0 (LIGGES *et al.*, 2013) e Seewave, versão 1.7.3 (SUEUR; AUBIN; SIMONIS, 2008).

### 3.3 Análise estatística

Para verificar a existência de variação dos parâmetros acústicos do canto de anúncio entre as populações de diferentes localidades, foi realizada uma análise de similaridade (ANOSIM), a partir de uma matriz com 27 linhas (uma linha para cada indivíduo), que foram representadas pelos valores numéricos das variáveis acústicas e as colunas foram representadas pelas variáveis acústicas das vocalizações. A ANOSIM é um teste não paramétrico utilizado para medir a diferença entre dois ou mais grupos, a partir de uma medida qualquer de distância, convertida em “ranks” e comparadas dentro e entre os grupos (CLARKE, 1993; LEGENDRE; LEGENDRE, 2012). Como a matriz utilizada é homogênea e contém dados quantitativos contínuos brutos (VALENTIN, 2012), foi utilizado o índice de similaridade de Bray-Curtis, o qual foi realizado usando 999 aleatorizações. Este índice não leva em consideração as duplas-ausências, sendo extremamente influenciado por valores dominantes, uma

vez que os valores raros pouco contribuem na análise (VALENTIN, 2012). Previamente às análises, a normalidade das variáveis foi testada, a variável que não apresentou dados normais (taxa de repetição dos cantos) foi padronizada em raiz quadrada para atingir a distribuição normal.

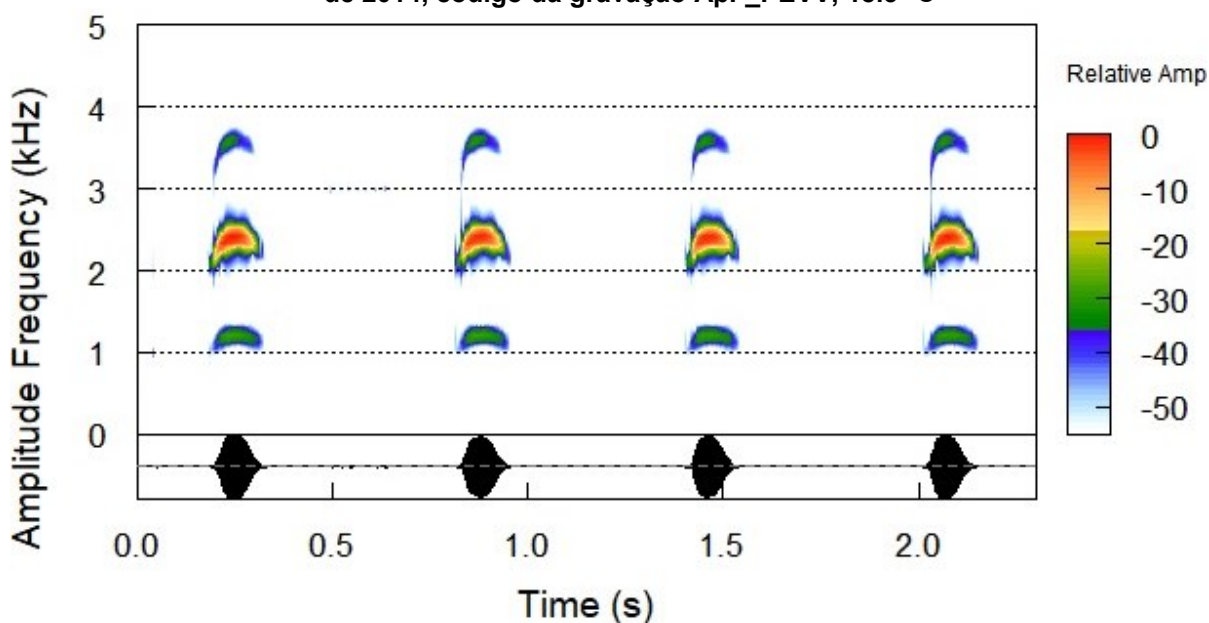
Para evidenciar a diferença das populações, foi realizado um escalonamento multidimensional não métrico (NMDS) (CLARCK; WARNICK, 1994). O NMDS reduz a informação da matriz à poucas dimensões que são exibidas e interpretadas, utilizando a ordem dos “ranks” (LEGENDRE; LEGENDRE, 2012). E para verificar a influência da temperatura do ar sobre os parâmetros temporais das vocalizações (duração do canto, intervalo entre cantos e taxa de repetição), foi utilizado uma análise de regressão simples (ZAR, 1999). Para todas as análises realizadas, foi utilizado o software estatístico R, versão 4.1.3 (R CORE TEAM, 2022). Para a realização da ANOSIM e do NMDS, foi utilizado o pacote Vegan, versão 2.6.2 (OKSANEN *et al.*, 2022). Foram gerados gráficos no software estatístico R (R CORE TEAM, 2022), e foram utilizados os pacotes: Vegan, versão 2.6.2 (OKSANEN *et al.*, 2022), Tidyverse, versão 1.3.0 (WICKHAM, 2021) e MASS (VENABLES; RIPLEY, 2002).

## 4 RESULTADOS

Foram obtidas e analisadas 27 gravações de *Aplastodiscus perviridis* de diferentes localidades em cinco estados: Minas Gerais, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. A temperatura média registrada das gravações recebidas foi de  $14,8^{\circ}\text{C} \pm 23^{\circ}\text{C}$  ( $11,4^{\circ}\text{C} - 23^{\circ}\text{C}$ ).

Todos os cantos de anúncio analisados são constituídos por uma única nota de estrutura harmônica não pulsada. A frequência dominante ocorre no segundo harmônico e possui uma tênue modulação de frequência ascendente (Figura 3). A média de duração dos cantos foi de  $0,131 \pm 0,159$  s ( $0,10 - 0,18$ ), a do intervalo entre os cantos foi de  $0,398 \pm 5,111$  s ( $0,35 - 9,68$ ), e a taxa de repetição foi de 9 – 81 cantos por minuto. Em média a frequência mínima foi de  $1198,28 \pm 2362,50$  Hz ( $1406,25 - 2531,25$ ), a frequência máxima foi  $2153,32 \pm 2531,25$  Hz ( $2110,25 - 2531,25$ ), e a frequência dominante foi  $2075,80 \pm 2446,87$  Hz ( $1406,25 - 2531,25$ ).

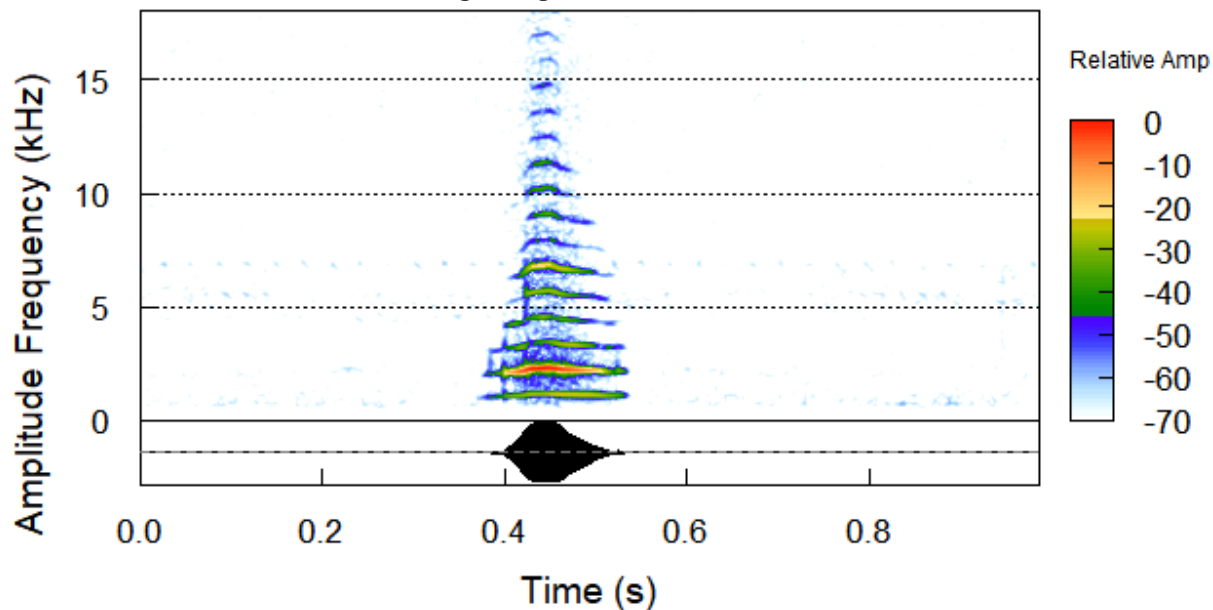
**Figura 3 – Espectrograma e oscilograma: Canto de anúncio de *A. perviridis* com a frequência dominante no segundo harmônico. Macho gravado em Ponta Grossa, PR no dia 10 de outubro de 2014, código da gravação ApF\_PEVV,  $18,3^{\circ}\text{C}$**



Fonte: Autoria própria

Foram observadas até seis bandas harmônicas nos cantos, no entanto, em apenas três cantos da mesma localidade, foram observados a presença de falsos harmônicos (Figura 4).

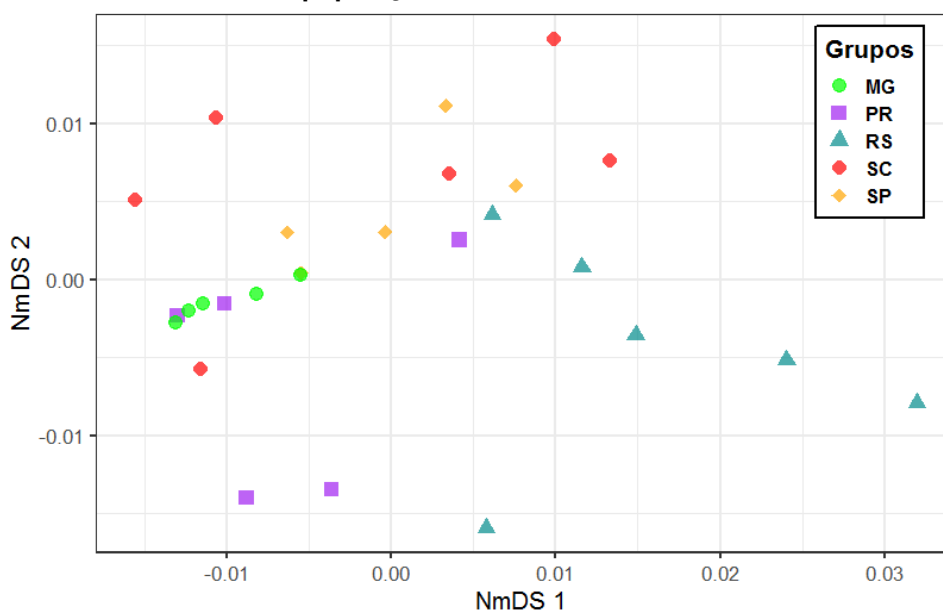
**Figura 4 – Espectrograma e oscilograma: Falsos harmônicos em um canto de anúncio de *A. perviridis*. Macho gravado em São Francisco de Paula, RS no dia 03 de novembro de 1995, código da gravação AKFr2A04, 18 °C**



Fonte: Autoria própria

Os parâmetros acústicos do canto de anúncio de *A. perviridis*, de maneira geral, diferiram entre as populações das diferentes localidades de onde os arquivos sonoros foram obtidos (ANOSIM:  $R = 0,32$ ;  $p < 0,001$ ), mesmo com alguma sobreposição dos parâmetros entre algumas amostras (Figura 5).

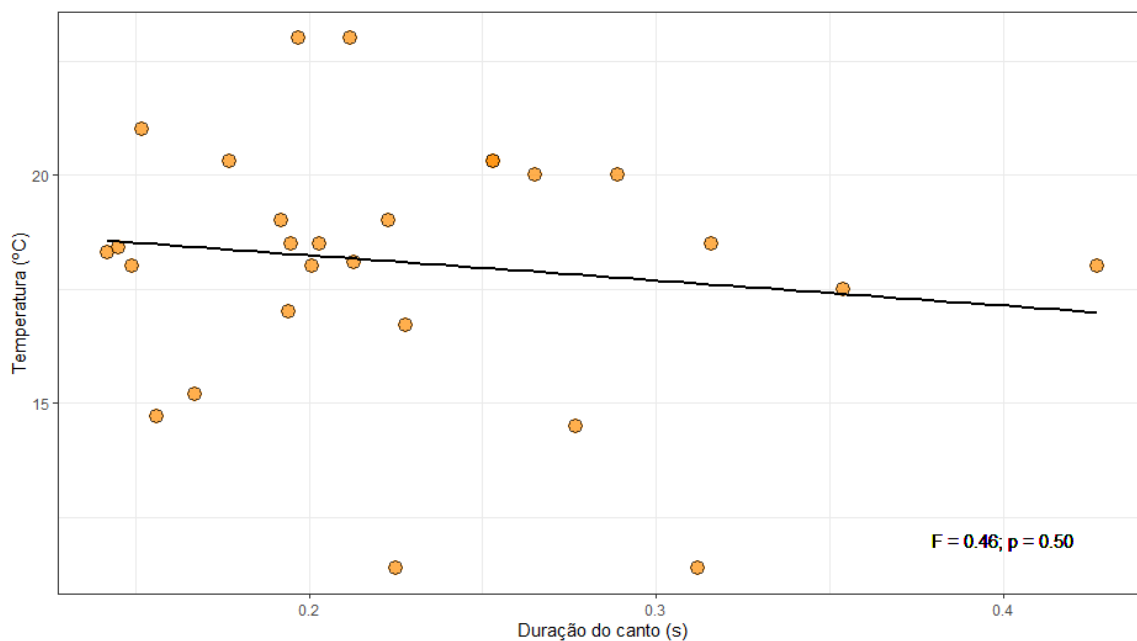
**Figura 5 – Diferença nos parâmetros acústicos do canto de anúncio de *A. perviridis* entre as populações de estados diferentes**



Fonte: Autoria própria

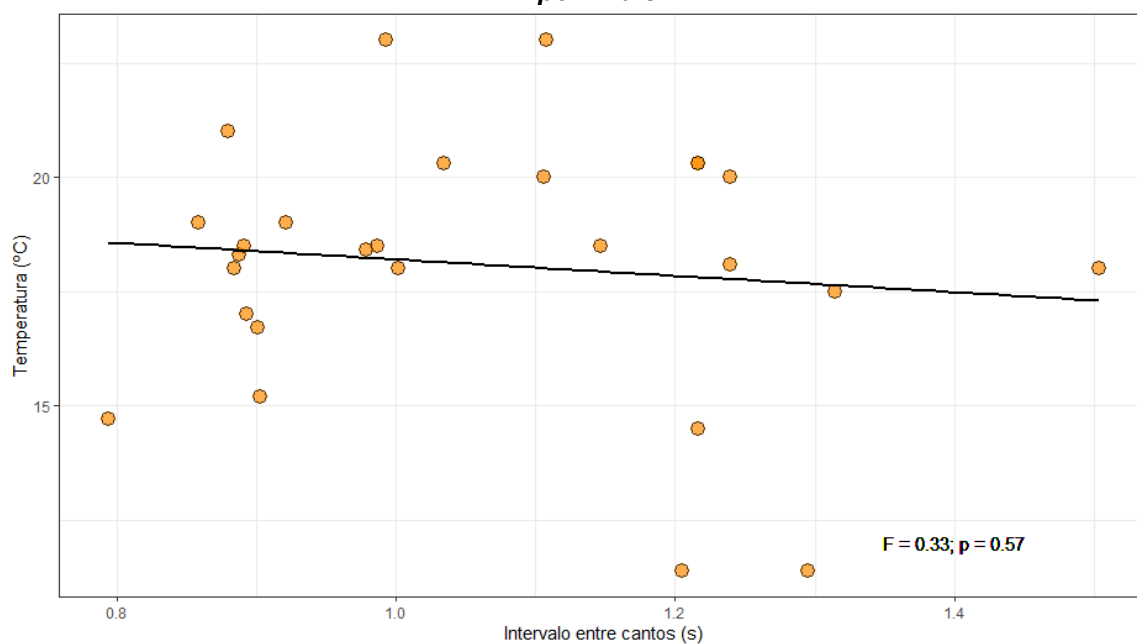
Não houve influência da temperatura do ar nos parâmetros acústicos temporais. Duração do canto ( $F = 0,46$ ;  $p = 0,50$ ) (Figura 6), intervalo entre cantos ( $F = 0,33$ ;  $p = 0,57$ ) (Figura 7) e na taxa de repetição do canto ( $F = 0,034$ ;  $p = 0,86$ ) (Figura 8).

**Figura 6 – Regressão linear entre a temperatura do ar e a duração do canto de anúncio de *A. perviridis***



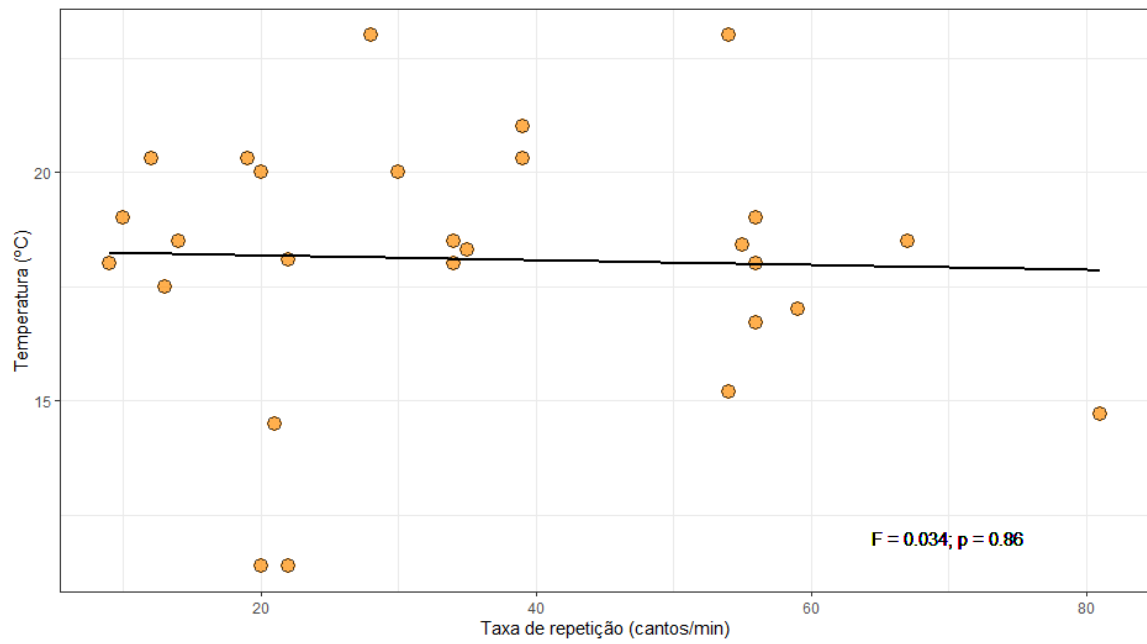
Fonte: Autoria própria

**Figura 7 – Regressão linear entre a temperatura do ar e o intervalo entre cantos de anúncio de *A. perviridis***



Fonte: Autoria própria

**Figura 8 – Regressão linear entre a temperatura do ar e a taxa de repetição do canto de anúncio de *A. perviridis***



**Fonte: Autoria própria**

## 5 DISCUSSÃO

Durante o período reprodutivo, o canto de anúncio é a vocalização mais frequentemente emitida pelos anuros (GUERRA *et al.*, 2018), bem como foi analisado para *Aplastodiscus perviridis* neste trabalho. Os cantos de anúncio de *A. perviridis* são compostos por uma única nota com modulação de frequência ascendente (BERNECK *et al.*, 2017). Foram observadas diferenças entre o trabalho prévio de *A. perviridis* e a análise do presente estudo na duração do canto e na taxa de repetição do canto, onde Berneck *et al.* (2017) verificaram uma duração do canto de 0,12 – 0,15 s e uma taxa de repetição máxima de 140 cantos por minuto. Enquanto que nas gravações analisadas para as populações dos diferentes estados neste trabalho, verificou-se que a duração do canto foi de 0,10 – 0,18 s e a taxa de repetição teve um número máximo de 81 cantos por minuto. É provável que essas diferenças estejam associadas a dois fatores, os abióticos, como a temperatura do ar, onde os autores verificaram uma temperatura mínima de 16°C e máxima de 19°C, ao passo que neste estudo foi verificado temperatura mínima de 11,4°C e máxima de 23°C; e os fatores sociais, como o número de machos vocalizando. Estes fatores são capazes de alterar a duração do canto e/ou a taxa de repetição (WELLS, 2007).

*Aplastodiscus perviridis* possui cantos estruturados em harmônicos, e a frequência dominante está situada no segundo harmônico (HADDAD; FAIVOVICH; GARCIA, 2005). Os autores observaram até quatro bandas harmônicas, enquanto que neste estudo foi observado em três gravações, até seis bandas harmônicas. No trabalho pioneiro de Bokermann (1967) foi verificado cinco bandas harmônicas visíveis. Segundo Garcia, Caramaschi e Kwet (2001), a presença de seis bandas harmônicas está diretamente relacionada com o aumento do nível de entrada do som. Dessa forma, presume-se que esse número encontrado no presente estudo esteja associado a saturação do som. Um padrão semelhante a este foi verificado e considerado por Haddad e Sawaya (2000) em *Aplatodiscus leucopygius*. Esse número não esperado e algumas vezes visível em excesso no espectrograma, é conhecido como falso harmônico, e em geral, ocorre quando o microfone se encontra posicionado em uma distância muito próxima da fonte de emissão do som e a sensibilidade tanto do microfone quanto do gravador se apresenta ajustada de forma incorreta (KÖHLER *et al.*, 2017).

Os parâmetros acústicos do canto de anúncio de *Aplastodiscus perviridis* mostraram diferenças significativas quando analisados usando ANOSIM. Isso ocorreu de forma semelhante no trabalho de Baraquet *et al.* (2015), onde os autores sugeriram em seu trabalho uma variação geográfica nos cantos de *Boana cordobae*, pois as diferenças encontradas entre as seis populações, conseguiram ser explicadas por um cline geográfico. Sendo assim, acredita-se que a diferença encontrada neste estudo também esteja relacionada à variação geográfica, haja vista que essas diferenças são muito mais propícias de ocorrerem em espécies que possuem uma grande amplitude geográfica, pois os indivíduos estão sujeitos a distintos processos evolutivos por estarem presentes em diferentes biomas, logo, diversos processos ambientais agem sobre essas populações, possibilitando com que as espécies se adaptem de forma diferente. Isso foi observado no trabalho de Berneck *et al.* (2017) em *Aplastodiscus Lutzorum*, que antigamente esta espécie era considerada uma única só com *A. perviridis*, e através de dados genéticos e morfológicos, os autores verificaram diferenças significativas entre ambas as espécies.

De um modo geral, os parâmetros acústicos temporais, como a duração do canto, intervalo entre cantos e taxa de repetição, tendem a ser mais influenciados pela temperatura do ar (GUIMARÃES; BASTOS, 2003; LINGNAU; BASTOS, 2007), como já foram registrados para algumas espécies (BOSCHETTI *et al.*, 2019; MOSER *et al.*, 2022). Entretanto, outros autores (BARAQUET *et al.*, 2015; FORTI; LINGNAU; BERTOLUCI, 2017) não encontraram essa correlação entre os parâmetros acústicos e a temperatura. Neste trabalho, a temperatura do ar não influenciou os parâmetros temporais na vocalização de *Aplastodiscus perviridis*. Sendo assim, supõe-se que essa não correlação indique uma possível adaptação fisiológica da espécie em relação a variação ambiental, uma vez que, espécies com maiores amplitudes de distribuição são fisiologicamente mais toleráveis a variação na temperatura e isso pode ter acontecido para *A. perviridis*. Entretanto, ressalta-se a importância de informações acerca do tamanho corporal e outros fatores sociais, como a distância do macho vocalizando e o número de indivíduos cantando no coro.



## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando que estudos acerca da variação do canto em diversas espécies de anfíbios anuros ainda são limitados, recomenda-se que mais trabalhos com espécies que possuem ampla distribuição geográfica sejam conduzidos para investigar as diferenças nos cantos, haja vista que eles podem indicar uma possível existência de espécies crípticas, pois o canto é um fator geneticamente determinado, e tem sido usado para separar espécies de alguns grupos de anuros morfologicamente similares. Este trabalho mostrou a formação de grupos de *Aplastodiscus perviridis*, portanto, estudos integrados de genética e de morfologia são necessários, uma vez que podem estabelecer a existência de mais diferenças populacionais.

## REFERÊNCIAS

- AMORIM, F. O. *et al.* Temporada e turno de vocalização de *Leptodactylus natalensis* Lutz, 1930 (Amphibia, Anura) na Mata Atlântica de Pernambuco, Brasil. **Papéis Avulsos de Zoologia**, v. 49, n. 1, p. 1-7, 2009.
- BARAQUET, M. *et al.* Geographic variation in the advertisement call of *Hypsiboas cordobae* (Anura, Hylidae). **Acta Ethologica**, v. 18, p. 79-86, 2015.
- BATISTA, V. G. *et al.* Vocalizations of two species of the *Hypsiboas pulchellus* group (Anura: Hylidae) with comments on this species group. **North-Western Journal of Zoology**, v. 11, n. 2, p. 253-261, 2015.
- BERNAL M. H.; GUARNIDO C.; LÜDDECKE, H. Geographic variation in advertisement call and genetic structure of *Colostethus palmatus* (Anura, Dendrobatidae) from the Colombian Andes. **Herpetologica**, v.61, n. 4, p. 395-408, 2005.
- BERNECK, B. V. M *et al.* The first species of *Aplastodiscus* endemic to the Brazilian Cerrado (Anura, Hylidae). **ZooKeys**, v. 642, p. 115-130, 2017.
- BIOACUSTICS RESEARCH PROGRAM. **Raven Pro**: interactive sound analysis software. Versão 1.6. New York: The Cornell Lab of Ornithology, 2011. Disponível em: <http://www.birds.cornell.edu/raven>. Acesso em: 10 fev. 2022.
- BOSCHETTI, J. P. *et al.* Bioacoustics of *Pithecopus rusticus* (Anura, Phyllomedusidae): A Rare Species Possibly Threatened with Extinction. **South American Journal of Herpetology**, v. 14, n. 3, p. 196-203, 2019.
- BOKERMANN, W. C. A. Notas sobre cantos nupciais de anfíbios brasileiros. I. (Anura). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 39, n. 3/4, p. 441-443, 1967.
- CASTELLANO, S. *et al.* The evolution of release and advertisement calls in green toads *Bufo viridis* complex. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 77, p. 379-391, 2002.
- CASTELLANO, S. *et al.* Morphometric and advertisement call geographic variation in polyploid green toads. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 70, n. 2, p. 341-360, 2000.
- CLARKE, K. R. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. **Australian Journal of Ecology**, v. 18, n. 1, p. 117-143, 1993.
- CLARKE, K. R, WARWICK, R. M. **Change in marine communities**: an approach to statistical analysis and interpretation. 2. ed. Plymouth: Primer-E, 1994.

CONTE, C. E. *et al.* Novos registros na distribuição geográfica de anuros na Floresta com Araucária e considerações sobre suas vocalizações. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 2, p. 201-224, 2010.

COSTA, S. M.; DIAS, E. J. R. Comportamento territorial, vocalização e biologia reprodutiva de *Allobates offersioides* (Anura: Aromobatidae). **Iheringia Série Zoologia**, Porto Alegre, v. 109, e2019031, 2019.

FORTI, L. R. *et al.* Can treefrog phylogeographical clades and species phylogenetic topologies be recovered by bioacoustical analyses? **Plos One**, v.12, n. 2, 2017.

FORTI, L. R.; LINGNAU, R.; BERTOLUCI, J. Acoustic variation in the advertisement call of the Lime treefrog *Sphaenorhynchus caramaschii* (Anura: Hylidae). **Vertebrate Zoology**, v. 67, n. 2, p. 197-205, 2017.

FROST, D. R. **Amphibian species of the world**: an online reference. Versão 6.0. Electronic database. American Museum of Natural History, New York, 2022. Disponível em: <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. Acesso em: 15 jun. 2022.

GARCIA, P. C. A.; CARAMASCHI, U.; KWET, A. O status taxonômico de *Hyla cochranæ* Mertens e recharacterização de *Aplastodiscus* A. Lutz (Anura, Hylidae). **Revista Brasileira de Zoologia**, v. 18, n. 4, p. 1197-1218, 2001.

GERHARDT, H. C.; HUBER, F. **Acoustic Communication in Insects and Anurans**: common problems and diverse solutions. University of Chicago Press: Chicago and London, 2002.

GINGRAS, B. *et al.* Phylogenetic signal in the acoustic parameters of the advertisement calls of four clades of anurans. **BMC Evolutionary Biology**, v. 13, n. 134, p. 1-12, 2013.

GUERRA, V. *et al.* The advertisement calls of Brazilian anurans: Historical review, current knowledge and future directions. **Plos One**, v. 13, n. 1, e0191691, 2018.

GUIMARÃES, L. D.; BASTOS, R. P. Vocalizações e interações acústicas em *Hyla raniceps* (Anura, Hylidae) durante a atividade reprodutiva. **Iheringia Série Zoologia**, v. 93, n. 2, p. 149-158, 2003.

HADDAD, C. F. B.; FAIVOVICH, J.; GARCIA, P. C. A. The specialized reproductive mode of the tree frog *Aplastodiscus perviridis* (Anura: Hylidae). **Amphibia-Reptilia**, v. 26, n. 1, p. 87-92, fev. 2005.

HADDAD, C. F. B.; SAWAYA, R. J. Modes of atlantic forest hylid frogs: A general overview and the description of a new mode. **Biotropica**, v. 32, p. 862-871, 2000.

KÖHLER, J. *et al.* The use of bioacoustics in anuran taxonomy: Theory, terminology, methods and recommendations for best practice. **Zootaxa**, v. 4251, n. 1, p. 001-124, 2017.

LEGENBRE, P.; LEGENBRE, L. **Numerical ecology**. Oxford: Elsevier, 2012.

LIGGES, U. *et al.* **Tuner**: analysis of music. Versão 1.0. [S. l.]: [s. n.], 2013. Disponível em: <http://r-forge.r-project.org/projects/tuner/>. Acesso em: 26 jun. 2022.

LINGNAU R.; BASTOS, R.P. Vocalizations of the Brazilian torrent frog *Hylodes heyeri* (Anura: Hylodidae): Repertoire and influence of air temperature on advertisement call variation. **Journal of Natural History**, v. 41, p. 1227-1235, 2007.

MAGRINI, L. **Caracterização acústica e padrão de evolução do canto de anúncio em pererecas neotropicais do clado *Scinax* (Hylidae)**: implicações taxonômicas, sistemáticas e macro-evolutivas. 2013. Tese (Doutorado em Biologia Comparada) - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2013.

MOSER, C. F. *et al.* Individual variation in the advertisement call of *Aplastodiscus albosignatus* (Anura: Hylidae) is correlated with body size and environmental temperature. **Zoologia**, Curitiba, v. 39, e21008, 2022.

OKSANEN, J. *et al.* **Vegan**: community ecology package. Versão 2.6.2. [S. l.]: [s. n.], 2022. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>. Acesso em: 25 jun. 2022.

PEDERASSI, J. *et al.* **Bioacústica dos anfíbios anuros da Serra da Mantiqueira, Bocaina de Minas, MG**. Ponta Grossa: Atena, 2022.

PEREIRA, M. S.; POMBAL, Jr., J. P.; ROCHA, C. F. Anuran amphibians in state of Paraná, southern Brazil. **Biota Neotropica**, v. 18, n. 3, e20170322, 2018.

R Core TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Versão 4.1.3. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2022. Disponível em: <https://www.r-project.org>. Acesso em: 10 abr. 2022.

SEGALLA, M. V. *et al.* List of brazilian amphibians. **Herpetologia Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 121-216, 2021.

SILVA, R. A.; MARTINS, I. A.; ROSSA-FERES, D. D. C. Bioacústica e sítio de vocalização em taxocenoses de anuros de área aberta no noroeste paulista. **Biota Neotropica**, v. 8, n. 3, p. 123-134, jul./set. 2008.

SCHAEFER, H. M. Visual communication: evolution, ecology, and functional mechanisms. **Animal Behaviour: Evolution and Mechanisms**, p. 3-28, 2010.

SMITH, M. J.; HUNTER, D. Temporal and geographic variation in the advertisement call of the booroolong frog (*Litoria booroolongensis*: Anura: Hylidae). **Ethology**, v. 111, n. 12, p. 1103-1115, 2005.

SUEUR, J.; AUBIN, T.; SIMONIS, C. Seewave: a free modular tool for sound analysis and synthesis. **Bioacoustics**, v. 18, n. 2, p. 213-226, jan. 2008.

- TESSAROLO, G. *et al.* Geographic variation in advertisement calls among populations of *Dendropsophus cruzi* (Anura: Hylidae). **The Herpetological Journal**, v. 26, n. 3, p. 219-227, 2016.
- TOLEDO, L. F. *et al.* The anuran calling repertoire in the light of social context. **Acta Ethologica**, v.18, p. 87-99, 2015.
- TUBARO, P. L. Bioacústica aplicada a la sistemática, conservación y manejo de poblaciones naturales de aves. **Etología**, v. 7, p. 19-32, 1999.
- VALENTIN, J. L. **Ecologia Numérica: Uma introdução à análise multivariada de dados ecológicos**. Rio de Janeiro: Interciência, 2012.
- VENABLES, W. N.; RIPLEY, B. D. **Modern Applied Statistics with S**. New York: Fourth, 2002.
- WEAVER, S. J.; CALLAGHAN, C. T.; ROWLEY, J. J. L. Anuran accents: continental-scale citizen science data reveal spatial and temporal patterns of call variability. **Ecology and Evolution**, v. 10, n. 21, p. 1-14, 2020.
- WICKHAM, H. **Tidyverse: easily install and load the 'tidyverse'**. Versão 1.3.1. [S. l.]: [s. n.], 2021. Disponível em: <https://CRAN.R-project.org/package=tidyverse>. Acesso em: 04 jun. 2022.
- WELLS, K. D. **The ecology and behavior of amphibians**. Chicago: University of Chicago Press, 2007.
- ZAR, J. H. 4. ed. **Biostatistical Analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1999.
- ZINA, J.; HADDAD, C. F. B. Acoustic repertoire of *Aplastodiscus arildae* and *A. leucopygius* (Anura: Hylidae) in Serra do Japi, Brazil. **South American Journal of Herpetology**, v. 1, p. 227-236, 2006.
- ZINA, J.; HADDAD, C. F. B. Reproductive activity and vocalizations of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura: Leptodactylidae) in Southeastern Brazil. **Biota Neotropica**, v. 5, n. 2, p. 119-129, 2005.