

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS- UNIFAL-MG

JOSIANE DA SILVA RICARDINO

**EVIDÊNCIAS DE INDIVIDUALIZAÇÃO, MAS NÃO DE ASSINATURA VOCAL NOS
CANTOS DE QUATRO HILÍDEOS NEOTROPICAIS**

Alfenas/MG

2015

JOSIANE DA SILVA RICARDINO

**EVIDÊNCIAS DE INDIVIDUALIZAÇÃO, MAS NÃO DE ASSINATURA VOCAL NOS
CANTOS DE QUATRO HILÍDEOS NEOTROPICAIS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Tecnologia Ambiental pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Meio Ambiente, Sociedade e Diversidade Biológica.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Grassetto Teixeira da Cunha. Co-orientador: Prof. Dr. Vinícius Xavier da Silva.

Alfenas-MG

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Biblioteca Central da Universidade Federal de Alfenas

Ricardino, Josiane da Silva.

Evidências de individualização, mas não de assinatura vocal nos cantos de quatro hiledeos neotropicais / Josiane da Silva Ricardino. – Alfenas - MG, 2015.

60 f.

Orientador: Rogério Grassotto Teixeira da Cunha.

Dissertação (Mestrado em Ecologia e Tecnologia Ambiental) -
Universidade Federal de Alfenas, 2015.

Bibliografia.

1. Vocalização animal. 2. Anfíbios. 3. Comunicação Animal. I. Cunha,
Rogério Grassotto Teixeira da. II. Título.

CDD-578

JOSIANE DA SILVA RICARDINO

**EVIDÊNCIAS DE INDIVIDUALIZAÇÃO, MAS NÃO DE ASSINATURA VOCAL NOS
CANTOS DE QUATRO HILÍDEOS NEOTROPICAIS**

A Banca examinadora abaixo assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Tecnologia Ambiental pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Meio Ambiente, Sociedade e Diversidade Biológica.

Aprovada em: 28/01/2015

Profº. Dr. Vinícius Xavier da Silva

Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:



Prof. Dra. Érica Hasui

Instituição: Universidade Federal de Alfenas

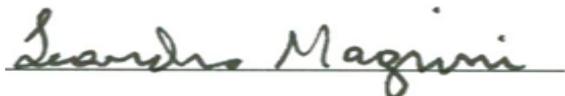
Assinatura:



Dr. Leandro Magrini

Instituição: Universidade de São Paulo

Assinatura:



Dedico aos meus pais, aos meus irmãos, aos meus orientadores, aos meus amigos e ao meu namorado. Obrigada pelo apoio em todas as etapas desse estudo.

AGRADECIMENTOS

A Deus autor e princípio de tudo.

Ao Prof. Dr. Rogério Grassetto Teixeira da Cunha, pela orientação, dedicação, paciência, e por ser o condutor do conhecimento adquirido ao longo desses dois anos.

Ao Prof. Dr. Vinícius Xavier da Silva, pela orientação, amizade, confiança e por ser um exemplo de ética profissional.

Aos amigos Mario, Joice, Adrielle e Michele, por me apoiarem e incentivarem em todas as etapas desse estudo.

As coautoras desse trabalho: Juliana, Amanda da Mata, Ana Laura, Amanda Santiago e Hayla, pelo empenho e dedicação ao nosso estudo.

Ao Prof. Dr. Mirco Solé pela confiança nas análises dos dados de *Aparasphenodon arapapa*.

A secretária e colega Janaina por possibilitar meu ingresso no programa por meio de suas orientações.

Ao senhor Miguel, Pedro e Luzia, que tornaram nossos dias de coletas mais agradáveis pelos ensinamentos transmitidos.

Aos amigos por torcerem e acreditarem que eu venceria mais essa etapa.

Aos meus pais Lene e Vanilza que não mediram esforços para minha permanência em Alfenas durante todos esses anos.

Aos meus queridos irmãos Josilene, Marcelo, Lucas e Leonardo pelo incentivo a prosseguir com meus estudos.

Ao meu namorado Thiago pelo amor e paciência diante da minha corrida rotina de acadêmica.

À Universidade Federal de Alfenas pelo apoio oferecido.

Enfim, a todos que de uma forma ou outra me apoiaram em mais esta etapa.

"Eterno é tudo aquilo que dura uma fração de segundos, mas com tamanha intensidade que se petrifica e nenhuma força consegue destruir".

(Carlos Drummond de Andrade)

RESUMO

A comunicação vocal é de extrema importância em diversos grupos de animais, uma vez que a informação transmitida pode indicar as condições ambientais, algumas características do emissor, como idade e sexo, e até mesmo seu grau de parentesco (indivíduos menos e mais aparentados). Em anfíbios anuros, o canto de anúncio, usado para reconhecimento espécie-específico pode apresentar variações individuais nas propriedades acústicas, o que pode tornar possível a individualização e o reconhecimento de cada macho vocalizador. O objetivo desse estudo foi testar justamente as hipóteses de segregação individual e assinatura vocal no canto de anúncio de quatro hílideos (Anura, Hylidae) neotropicais: *Hypsiboas faber*, *Hypsiboas bischoffi*, *Hypsiboas prasinus* e *Aparasphenodon arapapa*. No total foram analisados 600 cantos de *H. faber*, 510 de *A. arapapa*, 91 de *H. bischoffi* e 98 cantos de *H. prasinus*. Foram mensuradas cinco variáveis espectrais e cinco temporais testadas através de Análise de Componentes Principais (PCA), Análise de Variância Multivariada (MANOVA) e coeficientes de variação intra e interindividual. Confirmamos a presença de individualização nos parâmetros analisados nas quatro espécies em estudo. Já a expectativa de assinatura vocal não foi corroborada. Os parâmetros acústicos que promoveram a segregação dos cantos foram bem variáveis. Essa ampla variação individual e intrínseca a cada indivíduo mostra como as vocalizações dos anuros em estudo apresentam plasticidade e complexidade maiores do que se imaginava.

Palavras-chave: *Aparasphenodon arapapa*. *Hypsiboas faber*. *Hypsiboas bischoffi*.
Hypsiboas prasinus. Variação no canto.

ABSTRACT

Vocal communication is extremely important in a large diversity of animals, once the transferred information can indicate environmental condition or a few characteristics as age, sex and even kinship of the signaller. The advertisement call used by amphibians anurans as species specific call, may present individual variation on its acoustics properties, which makes both individualization and signaller Hylids: *Hypsiboas faber*, *Hypsiboas bischoffi*, *Hypsiboas prasinus* and *Aparasphenodon arapapa* recognition possible. The goal of this study was to try out the individual segregation and vocal signature hypothesis in the call of four Neotropical. In total we analysed 600 calls of *H. Faber*, 510 of *A. arapapa*, 91 of *H. Bischoffi* and 98 of *H. prasinus*. We extract five spectral and five temporal variables and tested with Principal Components Analysis (PCA), Analysis of Multivariate Variance (MANOVA) and coefficient of variation among and within individuals. We could sustain the presence of individualization in the parameters analysed in all four species studied. In the other hand, our expectation about vocal signature was not corroborated. This wide individual variation and intrinsic to each individual shows how anuran vocalization presents a plasticity and complexity higher than we thought.

Keywords: *Aparasphenodon arapapa*. *Hypsiboas faber*. *Hypsiboas bischoffi*.

Hypsiboas prasinus. Call individualization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Espécies alvos do estudo. A: <i>Hypsiboas bischoffi</i> , B: <i>Hypsiboas faber</i> , C: <i>Hypsiboas prasinus</i> , D: <i>Aparasphenodon arapapa</i>	21
Figura 2- Oscilograma e espectrograma do canto de anúncio de <i>Hypsiboas bischoffi</i> em Atibaia-SP.....	22
Figura 3- Oscilograma e espectrograma do canto de anúncio de <i>Hypsiboas faber</i> em Guaxupé-MG.....	23
Figura 4- Oscilograma e espectrograma do canto de anúncio (Nota A) de <i>Hypsiboas prasinus</i> em Atibaia-SP	24
Figura 5- Oscilograma e espectrograma do canto de anúncio (Nota B) de <i>Hypsiboas prasinus</i> em Atibaia-SP	25
Figura 6- Oscilograma e espectrograma do canto de anúncio (Nota C) de <i>Hypsiboas prasinus</i> em Atibaia-SP	25
Figura 7- Oscilograma e espectrograma do canto de anúncio de <i>Hypsiboas faber</i> em Ilhéus-BA.....	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Estudos realizados com algumas espécies de hilídeos evidenciando as relações dos fatores bióticos e abióticos com a frequência do canto.....	18
Tabela 2- Estudos que evidenciam a presença de assinatura vocal em diferentes espécies.....	20
Tabela 3- Definição dos três tipos de notas presentes no canto de anúncio de <i>Hypsiboas prasinus</i>	24

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO GERAL	11
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1	COMUNICAÇÃO ANIMAL	12
2.2	COMUNICAÇÃO NO GRUPO DOS ANUROS	13
2.2.1	O canto em coro	14
2.2.2	Escolha do parceiro pelas fêmeas	16
2.2.3	Relação do canto com fatores bióticos e abióticos	17
2.3	INDIVIDUALIZAÇÃO E ASSINATURA VOCAL	18
2.4	ALVOS DO ESTUDO	20
2.4.1	<i>Hypsiboas bischoffi</i>	21
2.4.2	<i>Hypsiboas faber</i>	22
2.4.3	<i>Hypsiboas prasinus</i>	23
2.4.4	<i>Aparasphenodon arapapa</i>	26
2.5	TERMOS BIOACÚSTICOS	26
2.6	IMPORTÂNCIA DO ESTUDO	27
	REFERÊNCIAS	28
3	ARTIGO	36
	Resumo	36
	Introdução	37
	Material e Métodos	38
	Resultados	43
	Discussão	44
	Referências	48

Agradecimentos.....	47
Referências.....	48
Anexos.....	52
Material Suplementar.....	57

1 INTRODUÇÃO GERAL

A comunicação sonora está presente em várias espécies de animais invertebrados e vertebrados (VIELLIARD, 2004). Em anuros, o canto é considerado a principal forma de comunicação entre os indivíduos do grupo (DUELLMAN; TRUEB, 1986). Sua emissão envolve diferentes contextos sociais, como a defesa do território, atração das fêmeas para reprodução, encontro entre machos e isolamento reprodutivo (MARTINS; HADDAD, 1988). Para cada um desses contextos há diferentes tipos de canto em cada espécie, sendo os mais conhecidos: o canto de anúncio, territorial, encontro, soltura e canto de estresse (WELLS, 1977; LINGNAU et al., 2004).

Entre esses tipos de cantos, de acordo com Duellman e Trueb (1986), o canto de anúncio é considerado o mais comum e importante para o grupo, pelo fato de ser o canto de reconhecimento específico, sendo este herdado geneticamente (VIELLIARD, 2004). Para Duellman (1970) este canto pode apresentar variação quanto ao número, repetição e duração das notas, e também devido a influências abióticas. Entre essas características Giacoma et al. (1997) e Lingnau e Bastos (2007) destacam a temperatura e umidade do ar. Além dos fatores abióticos, Bastos et al. (2003) considera também as características bióticas, como biomassa e comprimento corporal do macho (BASTOS et al., 2003). Além da grande riqueza de espécies de anuros, cada espécie ainda apresenta repertório distinto (VIELLIARD, 2004).

Observar se essas espécies apresentam variação nas suas vocalizações espécie-específicas serve de subsídio para responder, segundo Caro (1998), a inúmeras perguntas sobre a comunicação dos anuros, como testar hipóteses de seleção sexual, entender parâmetros vocais preferidos pelas fêmeas, verificar se machos vizinhos se reconhecem ou sabem quantificar seus oponentes.

Diante dessas perspectivas nosso estudo busca esclarecer a presença de variação individual no canto de quatro espécies de anuros brasileiros.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Esse capítulo busca esclarecer sobre a importância da comunicação entre os animais, com ênfase em anfíbios anuros. Por meio de diferentes estudos, apresentamos a função dos diferentes cantos e sua relação principalmente com a reprodução das espécies.

2.1 COMUNICAÇÃO ANIMAL

A comunicação nos animais vem sendo mais intensamente estudada desde a ampla investigação realizada por Darwin no século XIX, principalmente depois de sua obra *A Teoria das Expressões Faciais*, de 1872 (JENKS, 2009; ADES, 1997). A comunicação ocorre pela transmissão de informações entre os indivíduos “A” e “B” (HALLIDAY; SLATER, 1983). Uma vez que essas informações são emitidas, o receptor apresenta algum tipo de reação a esse sinal, e de algum modo, o indivíduo emissor pode ser beneficiado, segundo Halliday e Slater (1983), pois a mensagem transmitida só faz sentido quando o receptor entende o sinal e age de acordo com ele (SEYFARTH et al., 2010). Caso contrário, o sinal torna-se inútil e pode se extinguir (SEARCY; NOWICKI, 2005).

Em relação aos sinais transmitidos, os animais utilizam-se de diversas modalidades de comunicação, adaptadas aos diferentes órgãos sensoriais. Porém, dois dos sinais mais comumente empregados são os visuais e vocais. Qualquer que seja a modalidade, no entanto, na evolução de um sinal específico devemos considerar que este apresenta custos e benefícios. Assim, um determinado sinal pode ser considerado uma estratégia evolutiva que foi selecionada entre outras de uma grande variedade de sinais presentes nas espécies (VIELLIARD, 2004).

Exemplos clássicos dessa seleção a partir de um balanço custo/benefício são a cauda do pavão (*Pavo cristatus*), que possui penas coloridas e exuberantes para a atração de fêmeas (benefício), mas que também chamam a atenção de predadores (JENKS, 2009). Já nos sinais vocais há uma série de funções atribuídas, desde isolamento reprodutivo, segundo Wells (1977), aviso de alerta sobre predadores, de

acordo com Jenks, 2009 e até o reconhecimento de machos “vizinhos” (BEE; GERHARDT, 2001).

Apesar dessas funções já evidenciadas, o estudo de vocalizações apresenta certas dificuldades quando se trata de testar alguns sinais. Halliday e Slater (1983) apontam duas dessas dificuldades. Uma delas é que, uma vez entendido o sinal e o contexto no qual ele está inserido, não é possível saber ao certo qual é a mensagem e se ela pode se diferenciar. Um segundo problema é que a comunicação engloba outros animais além do emissor do sinal, sendo necessária uma análise do efeito que o sinal causa em um receptor e o que este pode indicar sobre o emissor.

2.2 COMUNICAÇÃO NO GRUPO DOS ANFÍBIOS ANUROS

A vocalização/canto é uma forma importante de comunicação entre os anfíbios anuros, sendo uma das características mais marcantes do grupo (DUELLMAN; TRUEB, 1986). Entre os anuros, o canto é emitido geralmente pelos machos (WELLS, 1977). Uma das poucas exceções é a rã africana *Xenopus laevis*, na qual as fêmeas também vocalizam (KELLEY, 2004). O canto dos anuros ocorre em diferentes contextos sociais, Martins e Haddad (1988) observaram o comportamento de defesa de território, Wells (1977a, 1977b) estudou a atração das fêmeas para reprodução e as interações agonísticas entre machos, e Blair (1955) observou a presença de isolamento reprodutivo. Além de reconhecimento intraespecífico (MARTINS; HADDAD, 1988). Para cada um destes diferentes contextos sociais há diferentes tipos de cantos (WELLS, 1977).

Wells (1977) sugeriu uma classificação com seis tipos básicos de cantos que normalmente são encontrados nas diferentes espécies de anuros: anúncio, territorial, encontro, corte, soltura e agonia. O canto de anúncio é aquele utilizado no reconhecimento espécie-específico, atração de parceiras para reprodução, e distribuição espacial entre os machos. O canto territorial tem como função principal a defesa dos sítios reprodutivos, além de manter outros machos distantes. Caso ocorra uma aproximação, os machos podem emitir o canto de encontro, que é o último recurso antes do embate físico, cuja função é a proteção dos sítios reprodutivos. Contudo, esse contexto social muda quando a aproximação ao sítio

reprodutivo de um macho é feita por uma fêmea. Nestes casos, o macho, ao perceber a presença da fêmea, pode emitir o canto de corte. O contexto social que envolve a emissão do canto de soltura é quando, por engano, um macho “abraça” ou agarra outro macho ou quando a fêmea é tocada, mas ainda não está sexualmente madura para que ocorra o amplexo, assim, esse canto emitido tem por função afastar os machos que se aproximam. Já o canto de estresse/agonia funciona para advertir outros indivíduos contra a presença ou aproximação de predadores.

A comunicação acústica em anuros está relacionada ao período reprodutivo de cada espécie, que pode apresentar uma duração prolongada, caracterizada por um maior número de dias dedicados à reprodução, pode se estender por meses ou até ao longo de todo o ano, ou concentrada, que ocorre em poucos dias ou semanas, a chamada reprodução explosiva, sendo esse tipo de reprodução típico de espécies que se aglomeram em poças de água temporária (WELLS, 1977).

A reprodução prolongada normalmente ocorre em espécies territorialistas, como em *Hypsiboas faber*, e os picos do ciclo reprodutivo podem coincidir com o período de chuvas (MARTINS, 1990). Já nas espécies de reprodução explosiva, a estratégia utilizada pelos machos é bem variada, uma vez que os machos podem permanecer por horas em um mesmo local ou podem adotar um comportamento ativo na área ocupada pelo coro (HADDAD, 1991). A emissão de cantos das espécies com esse padrão de reprodução é relativamente maior ao longo da noite do que a emissão das espécies de reprodução prolongada (WELLS, 1977), uma vez que há vantagens em despendere um maior gasto energético, devido ao curto período reprodutivo.

Apesar dessa classificação proposta por Wells (1977), há sempre certa dificuldade em classificar quanto ao tipo de reprodução de uma espécie, pois a mesma pode apresentar características tanto de reprodução explosiva, tanto prolongada (HOWARD, 1988).

2.2.1 O canto em coro

Um evento comum entre as espécies de anuros é o canto em coro ou em duetos, que se define pela emissão do canto de anúncio por dois ou mais machos simultaneamente em um mesmo local (REICHERT, 2010). Este comportamento

vocal permite que um competidor obtenha informações de outros machos de sua espécie, através da frequência dominante do canto (frequência com maior pico de energia), por exemplo (BEE;GEHARDT, 2001).

Por meio dessa variável acústica o macho consegue estimar características fisiológicas, genéticas e o tamanho corporal do seu vizinho (STEBBINS; COHEN, 1995). Essas informações são de extrema importância nas espécies territorialistas, que disputam sítios reprodutivos (SULLIVAN; HINSHAW, 1990). Pois além da disputa física por esses sítios, há também competição vocal (WELLS, 1988). Assim, ao avaliar seu oponente pelo canto emitido, o macho poderá tomar decisões quanto à estratégia a utilizar, como a emissão de um canto mais agressivo no caso de espécies territorialistas, que apresentam um comportamento de defesa de determinada área para usar como sítio de vocalização (BEE; GERHARDT, 2001).

Apesar de poder fornecer informações para machos oponentes, o canto de anúncio no contexto de coro apresenta como função principal a atração de parceiras reprodutivas (WELLS, 1977). Cantos em coro podem chegar mais longe e atrair fêmeas mais distantes, o que é particularmente importante nas espécies de reprodução explosiva de acordo com (Wells 1977), nas quais é preciso otimizar o esforço reprodutivo (reunir o maior número possível de machos e fêmeas) em poucos dias de oferta de água. Nessas condições (alta densidade e competição entre os machos), quanto mais denso o coro, maior a dificuldade de cada macho para atrair uma parceira específica para si (SCHWARTZ et al., 2002).

Outro fator que pode dificultar a atração da fêmea por um macho específico em espécies com coro é a interferência do ambiente. Ambos os fatores contribuem para o efeito “cocktail party”, segundo Bee (2012), que ocorre quando a vocalização é emitida em coro pelos machos, mas, devido ao intenso ruído externo (ambiente e outros machos), torna-se difícil para uma fêmea ouvir o sinal emitido pelo macho específico. No entanto, apesar dessa interferência, as fêmeas são capazes de diferenciar um macho do outro e também escolher o melhor parceiro para acasalar (SCHWARTZ; GERHARDT, 1989). Tal façanha ocorre pelo fato dos ouvidos das fêmeas possuírem grandes quantidades de células que captam frequências específicas do canto de anúncio de machos de sua espécie, e uma quantidade ínfima para outras frequências de outros cantos (HALLIDAY; SLATER, 1983).

Além da capacidade das fêmeas conseguirem diferenciar machos em um coro, os machos também possuem suas próprias estratégias para reduzir a

interferência do coro, como as mudanças nas propriedades acústicas de seu canto, tanto nos aspectos temporais, quanto espectrais (BOSCH; MARQUEZ, 2001). Essas mudanças podem ser de caráter individual, como foram observadas na rã-touro-americana *Lithobates catesbeianus* (BEE; GERHARDT 2001; 2002). Entre os hilídeos, o canto em coro é muito comum, com destaque nos estudos de Reinke e Deiques (2010) e Bastos e Haddad (1999), que relatam esse comportamento em diversas espécies, o que torna importante a elaboração de estudos que busquem o entendimento desse comportamento e sua função no contexto de reprodução das espécies.

2.2.2 Escolha do parceiro pela fêmea

Uma das perguntas que muitos pesquisadores tentam desvendar é sobre a seleção dos parceiros feita pelas fêmeas. Quais características as fêmeas preferem na escolha do macho para o amplexo? Quais informações o canto dos machos transmitem para as fêmeas da sua espécie? As características do canto interferem na escolha das fêmeas? Estas características correlacionam-se com as características procuradas pelas fêmeas ou pode haver blefe? Quando maduras sexualmente, ou seja, repletas de óvulos e prontas para o amplexo, as fêmeas tendem a escolher machos com canto mais complexo. Em *Engystomops pustulosus*, por exemplo, fêmeas respondem mais às diferenças presentes nas variáveis temporais (BOSCH et al., 2000).

Algumas evidências mostram que as fêmeas direcionam suas escolhas para machos menos aparentados. Waldman (1997) realizou testes comportamentais (teste de arena) com fêmeas e, através da reprodução do canto de machos de uma determinada lagoa, grande porcentagem das fêmeas preferiu o canto dos machos menos aparentados. Posteriormente foi realizada uma análise genética para validar a preferência das fêmeas. Se escolhessem machos próximos, os genes de um mesmo ancestral próximo seriam compartilhados, aumentando a taxa de endogamia e diminuindo a variabilidade genética da população, tornando-a mais susceptível a eventos estocásticos (NEFF & PITCHER, 2005).

Contudo, um estudo recente de LUO et al. (2014) mostrou que a taxa de cruzamento das fêmeas com machos aparentados em pequenas populações foi bem

maior que o esperado, aumentando ainda mais a endogamia dessas populações. Assim em locais aonde as espécies não são tão abundantes, como ambientes impactados ou espécies mais raras, a menor oferta de parceiros sexuais pode levar a este tipo de situação. Isso nos leva a pensar em diversas questões como: Qual a taxa de endogamia nas populações mais isoladas? Nas populações de espécies raras? Nas áreas mais conservadas? Nas áreas com degradação recente? Esse trabalho reflete as inúmeras lacunas que ainda podem ser exploradas quando se trata de seleção sexual em anfíbios anuros.

2.2.3 Relação do canto com fatores bióticos e abióticos

Em anuros as espécies se diferem quanto ao número e quanto aos tipos de canto que compõem o repertório vocal (POUGH et al., 2006, WELLS, 1977). O canto de anúncio é o canto de reconhecimento específico das espécies, pode apresentar variação quanto ao número, repetição e duração das notas (DUELLMAN, 1970). Essas diferenças podem ocorrer entre diferentes indivíduos de uma mesma espécie ou nos diferentes cantos do mesmo indivíduo (LINGNAU, 2009).

As variações intraespecíficas encontradas no canto podem ser atribuídas tanto a fatores bióticos quanto abióticos (POUGH et al., 2006). A frequência dominante do canto de anúncio das espécies, por exemplo, geralmente apresenta relação com o tamanho corporal e a biomassa dos machos (TOLEDO; HADDAD, 2005) e com a temperatura do ar (NAVAS; BEVIER, 2001).

Ao analisar a relação do tamanho corporal e a biomassa com a frequência dominante de 18 espécies distintas, Silva e colaboradores (2008) encontraram um padrão mais alto desta frequência em indivíduos com menor comprimento rostro-cloacal (CRC) e o inverso para indivíduos com maior CRC. Normalmente são encontradas correlações negativas para tamanho corporal e biomassa em relação à frequência dominante (RYAN, 1980). Essa tendência pode ser explicada pelo fato da laringe poder alterar somente os parâmetros espectrais do canto, segundo Martin (1972), por meio das pregas vocais, cujo tamanho é dependente do tamanho do indivíduo (DUELLMAN & TRUEB, 1994). Por isso, a frequência dominante (frequência com maior concentração de energia) é considerada a variável “mais

honestas” para mensurar o tamanho corporal do macho emissor (BEE; GERHARDT, 2001).

Entretanto o mesmo não ocorre nos parâmetros temporais, que tendem a ser influenciados pela temperatura (MARTIN, 1972). Alguns estudos com diversas espécies de hilídeos já confirmaram essas relações (TABELA 1).

Tabela 1- Estudos realizados com algumas espécies de hilídeos evidenciando as relações dos fatores bióticos e abióticos com a frequência dominante do canto.

Relação	Espécie	Autor (s)
	<i>Aplastodiscus perviridis</i>	Lingnau (2009)
	<i>Hypsiboas bischoffi</i>	Lingnau (2009)
	<i>Hypsiboas prasinus</i>	Lingnau (2009)
Relação negativa entre tamanho corporal e frequência dominante	<i>Hypsiboas albopunctatus</i>	Silva et al. (2008)
	<i>Scinax fuscovarius</i>	Silva et al. (2008)
	<i>Scinax fuscomarginatus</i>	Silva et al. (2008)
	<i>Scinax similis</i>	Silva et al. (2008)
	<i>Dendropsophus cruzi</i>	Bueno et al. 2003
	<i>Dendropsophus werneri</i>	Lingnau et al. (2004)
Relação negativa entre biomassa e frequência dominante	<i>Hypsiboas prasinus</i>	Lingnau (2009)
Relação positiva entre a temperatura do ar e duração do canto	<i>Hypsiboas raniceps</i>	Guimarães: Bastos (2003)

Fonte: Do autor.

2.3 INDIVIDUALIZAÇÃO DO CANTO E ASSINATURA VOCAL

A individualização no canto ocorre quando um indivíduo emite um sinal acústico com certas características, que torna possível sua distinção entre os demais indivíduos da espécie (AUBIN et al., 2007). Essa individualização, além da relação com os fatores bióticos e abióticos, segundo Gerhardt (1991), também pode estar associada aos critérios de escolha das fêmeas, uma vez que o macho pode

modificar algumas propriedades do seu canto (como a frequência dominante e a taxa de repetição do canto) de modo a obter maior sucesso reprodutivo.

A presença de individualização já foi registrada em algumas espécies animais, como o estudo de Sousa-Lima et al. (2002) com o peixe-boi da Amazônia- *Trichechus inunguis*, de Evans (1970) com as gaivotas-de-bico-riscado - *Larus delawarensis* e com raposas - *Alopex lagopus* (FROMMOLT et al., 2003). Nas espécies de anfíbios anuros alguns estudos já evidenciaram esse padrão de individualização no canto de anúncio (BRIGGS, 2010; BEE; GERHARDT, 2001).

Em muitos casos, as características que individualizam um canto permitem o reconhecimento individual do emissor (BEE; GERHARDT, 2002; DAVIS, 1987). Esse reconhecimento depende do envio de um estímulo por um indivíduo, que originará uma resposta neural ou comportamental apropriada em outro, a qual pode ser mais específica ou geral (WILEY, 2013). Nessas espécies com evidências de reconhecimento entre os indivíduos, pode-se encontrar “sistema de assinatura vocal”, que é a presença de características nas propriedades do canto que se mantêm e possibilitam a distinção e reconhecimento individual (BEECHER, 1989). A ocorrência de assinatura vocal, além do contexto social, pode estar relacionada com aspectos anatômicos e fisiológicos dos indivíduos, de modo que o sinal emitido por estes possam ser diferenciados intraespecificamente (TAYLOR; REBY, 2010).

Um exemplo de reconhecimento individual é quando os machos de uma espécie apresentam comportamento vocal diferente na presença de machos próximos (vizinhos) ao seu território e de machos de locais diferentes (estranhos ou não) (DAVIS, 1987; BEE; GERHARDT, 2002).

Essas características presentes no canto podem ser vantajosas e, segundo Beecher (1989), podem ser mais facilmente evidenciadas em espécies coloniais, nas quais há maior possibilidade da troca de prole. Esse reconhecimento de filhotes por seus pais, ou entre irmãos ocorre em espécies distintas (TABELA 2).

Estudos que busquem a identificação individual são importantes por possibilitar que novas hipóteses sejam geradas e testadas, a fim de se obter maior entendimento de como a individualização do canto influencia no contexto de seleção sexual e no reconhecimento entre os indivíduos da mesma espécie (PETTITT et al. 2013).

Tabela 2- Estudos que evidenciam a presença de assinatura vocal em diferentes espécies.

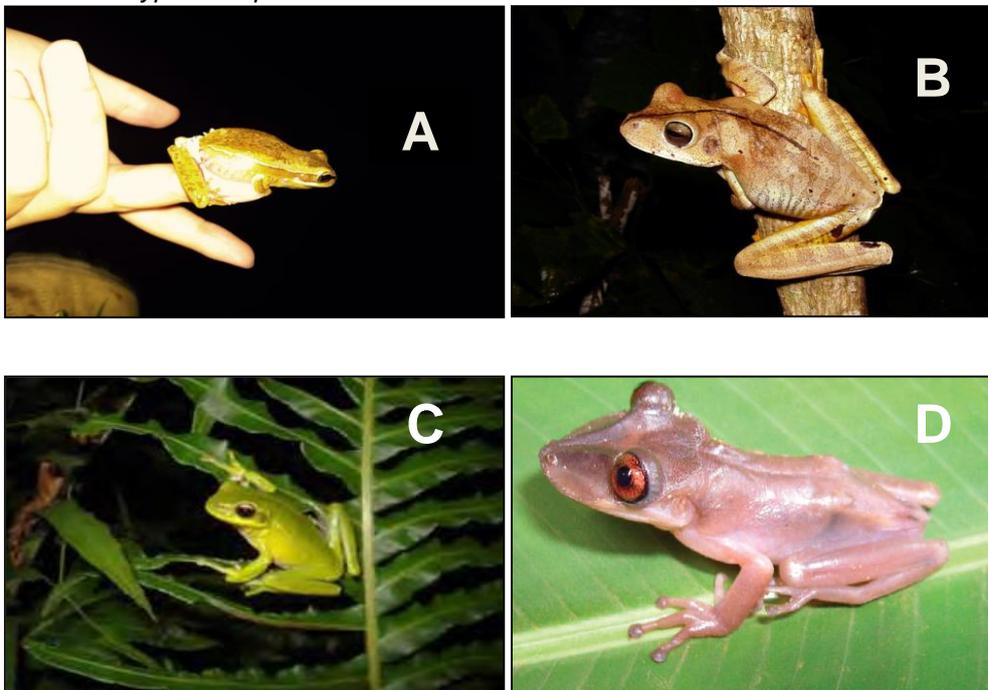
Espécies	Autores
<i>Carollia perspicillata</i> (morcego)	Knörnschild et al. 2013
<i>Tyto alba</i> (coruja)	Dreiss et al. 2013
<i>Arctocephalus gazela</i> (lobo-marinho-antártico)	Dobson; Jouventin, 2003
<i>Trichechu sinunguis</i> (Peixe-boi)	Sousa-Lima et al. 2002
<i>Hirundo pyrrhonota</i> e <i>Hirundo rústica</i> (Andorinhas)	Medvin et al. 1993

Fonte: Do autor

2.4 ALVOS DO ESTUDO

As espécies de anuros escolhidas para o presente estudo pertencem à família Hylidae (*Aparasphenodon arapapa*, *Hypsiboas bischoffi*, *Hypsiboas faber* e *Hypsiboas prasinus*, Figura 1). Esta família possui espécies com ampla distribuição, de fácil visualização e com grande número de indivíduos no período reprodutivo (MELO et al., 2007; MENIN et al., 2004; MARTINS, 1993; HADDAD, 1987). Todas estas características favorecem a escolha dos hílideos para estudos sobre vocalização e seus aspectos ecológicos e evolutivos (ZINA; HADDAD, 2006; BASTOS; HADDAD, 1995).

Figura 1- Espécies-alvo desse estudo. A: *Hypsiboas bischoffi*, B: *Hypsiboas faber*, C: *Hypsiboas prasinus*.

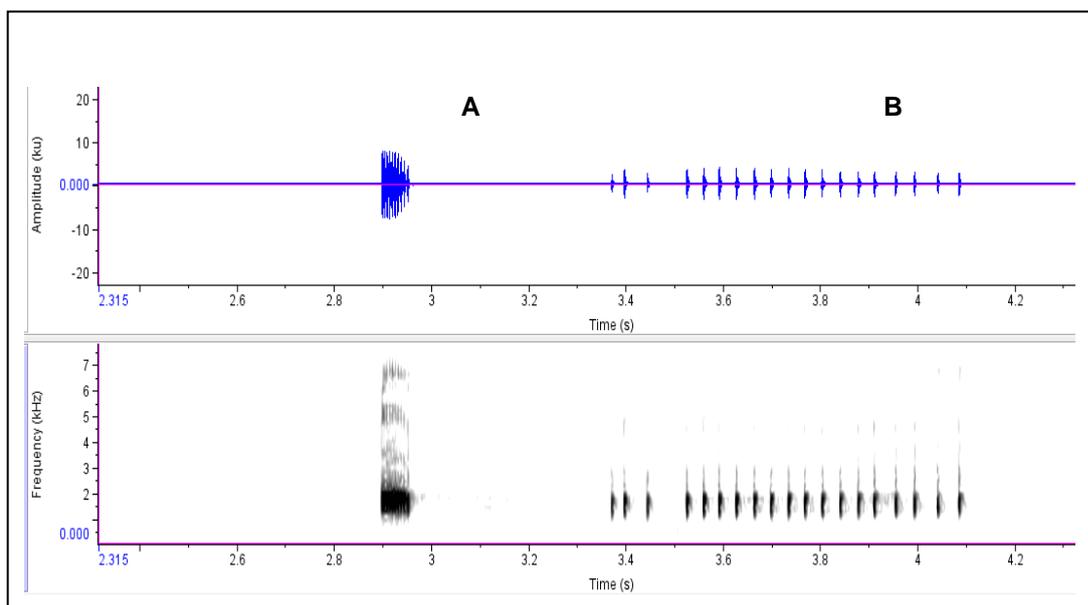


Fonte: Figura A e B (Do autor). Figura C: DELGADO (2013, p.98), Figura D: LOURENCO-DE- MORAES et al (2013, p.577).

2.4.1 *Hypsiboas bischoffi*

Hypsiboas bischoffi é uma espécie endêmica de Mata Atlântica e pode ser encontrada desde o Estado de São Paulo até o sul do Rio Grande do Sul. (MARCELINO et al., 2009). Esta espécie apresenta um porte de médio a grande, com machos medindo entre 36 a 47 mm e fêmeas de 57 a 60 mm de CRC (comprimento rostro-cloacal) (HEYER et al., 1990). O canto de anúncio dessa espécie é composto por dois tipos de notas: A e B. A nota “A” é constituída por um único pulso, enquanto a nota B é formada por vários pulsos (LINGNAU, 2009; TOLEDO et al., 2007, HEYER et al., 1990). Quando as notas A e B são emitidas (FIGURA 2) em sequência o canto é classificado como canto misto (CARDOSO, 1989).

Figura 2- Oscilograma e o espectrograma do canto de anúncio de *Hypsiboas bischoffi*, em Atibaia-SP.



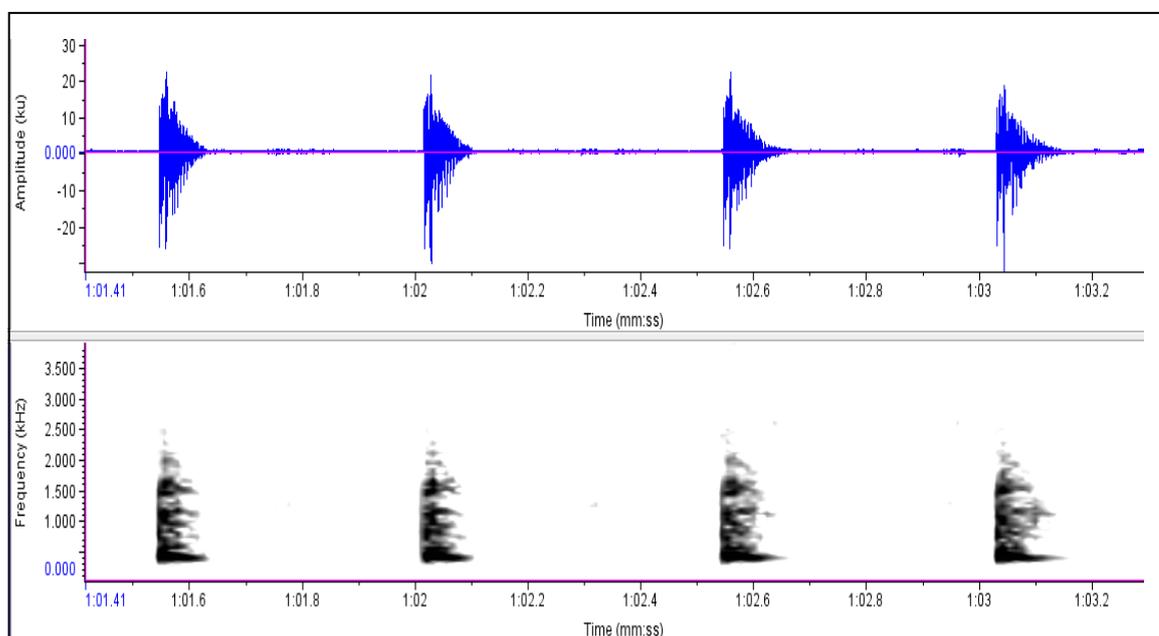
Fonte: Do autor.

Nota: Indivíduo 4x gravado no dia 14/12/13, às 22:29 h, temperatura do ar: 20,0°C.

2.4.2 *Hypsiboas faber*

Hypsiboas faber (sapo-martelo) tem ocorrência em várias regiões do Brasil. Sua distribuição vai desde o estado da Bahia até o Rio Grande do Sul (FROST, 2014). Esta espécie também é encontrada na região nordeste da Argentina (MARTINS; HADDAD, 1998). Habita áreas abertas e também áreas de florestas próximas a corpos d'água lânticos (MARTINS, 1993). Esta espécie é territorialista e seu repertório vocal é amplo (MARTINS, 1993). Seu canto de anúncio é composta por um único pulso com estrutura harmônica, denominada nota (FIGURA 3).

Figura 3- Oscilograma e o espectrograma do canto de anúncio da espécie *Hypsiboas faber*, em Guaxupé- MG.



Fonte: Do autor.

Nota: Indivíduo 2 gravado no dia 01/02/2013, às 21:06 h, temperatura do ar: 22,8°C.

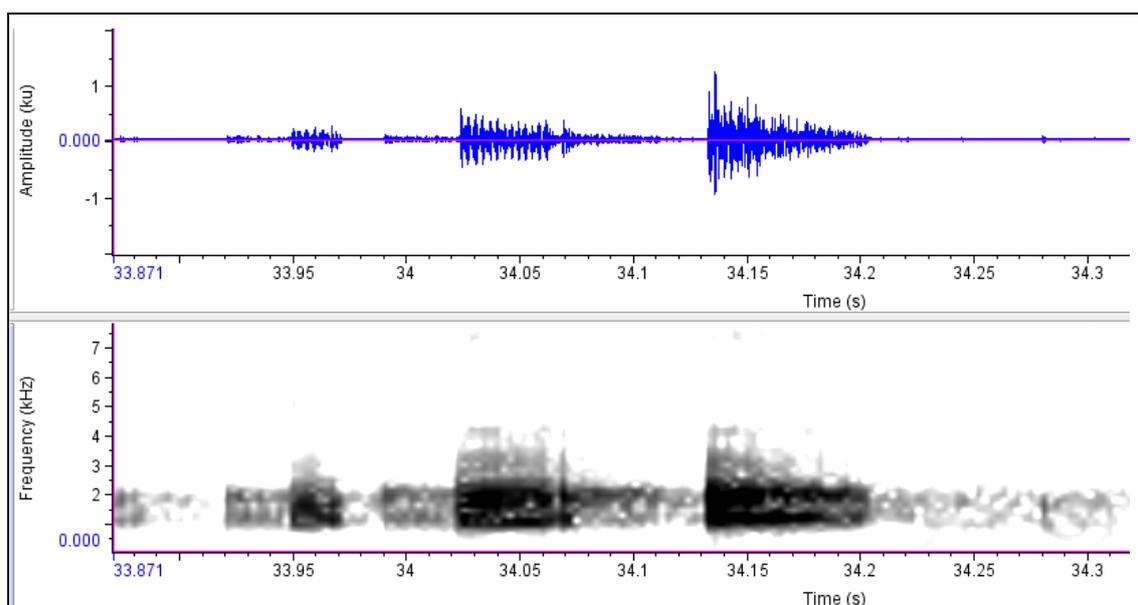
2.4.3 *Hypsiboas prasinus*

Hypsiboas prasinus é uma espécie de porte médio (40 a 50 mm de CRC), que ocorre no sudeste do Brasil e no Rio Grande do Sul (KWET; MIRANDA, 2001). Pode ser considerada uma espécie generalista, por ocupar diferentes sítios de reprodução, tais como áreas abertas, de mata e bordas de mata (BERTOLUCI; RODRIGUES, 2002). Seu período reprodutivo estende-se ao longo do ano, como sugerido por Haddad e Sazima (1992) e apresenta um comportamento territorialista (HADDAD, 1991). O canto de anúncio é formado por três notas distintas: A, B e C (TABELA 3), sendo todas multipulsionadas (FIGURA 4, 5,6) (POMBAL JR., 2010). Delgado (2013) classifica esses três tipos de notas de acordo com o comportamento dos indivíduos.

Tabela 3- Definição dos três tipos de notas presentes no canto de anúncio de *Hypsiboas prasinus*.

Tipo de canto	Nota	Definição das notas
Canto de anúncio	A	Nota composta por três partes
Canto de anúncio	B	Nota composta por quatro partes ou cinco partes, com as duas primeiras justapostas
Canto de anúncio	C	Nota composta por duas partes

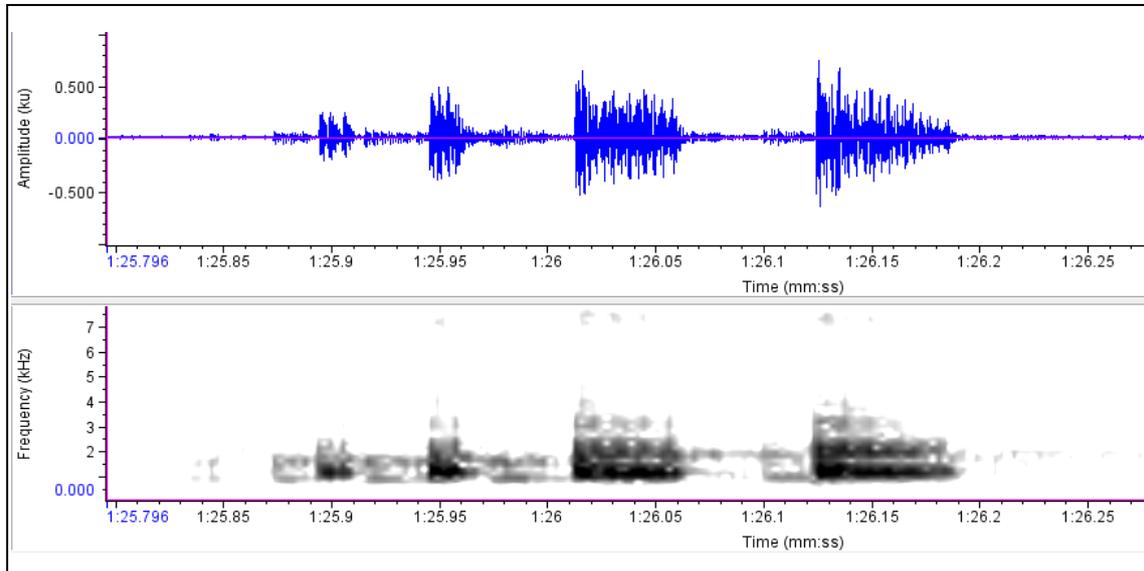
Fonte: DELGADO (2013).

Figura 4- Oscilograma e espectrograma do canto de anúncio (nota A) de *Hypsiboas prasinus*, em Atibaia-SP.

Fonte: Do autor.

Nota: Indivíduo 31 gravado no dia 26/02/2013, às 22:15 h, temperatura do ar: 27°C.

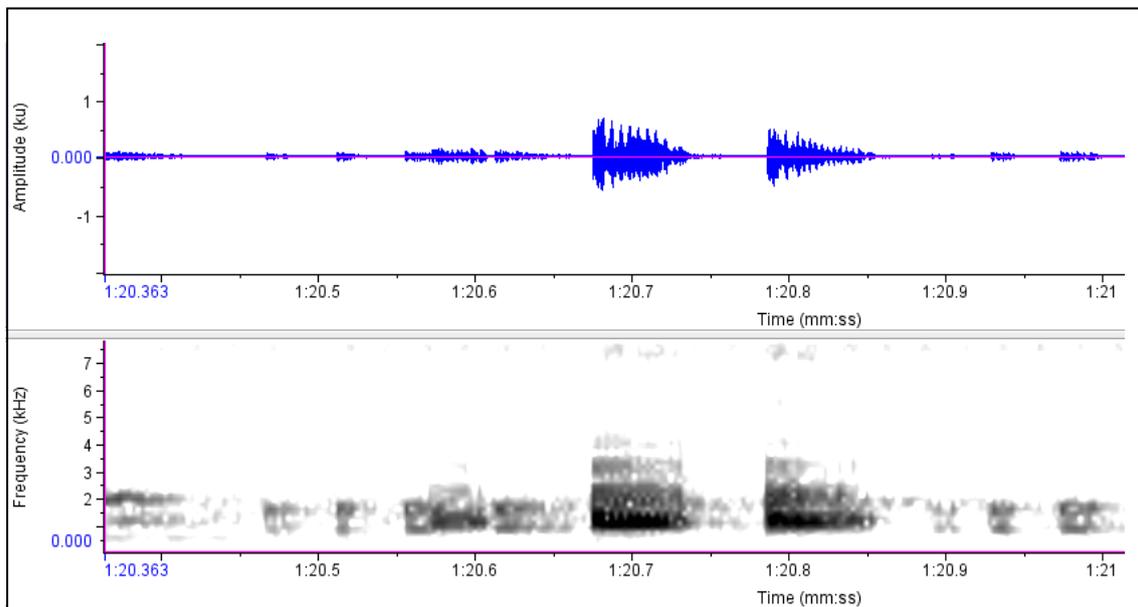
Figura 5- Oscilograma e espectrograma do canto de anúncio (nota B) de *Hypsiboas prasinus*, em Atibaia-SP.



Fonte: Do autor.

Nota: Indivíduo 31 gravado no dia 26/02/2013, às 22:15 h, temperatura do ar: 27°C.

Figura 6- Oscilograma e espectrograma do canto de anúncio (nota C) de *Hypsiboas prasinus*, em Atibaia-SP



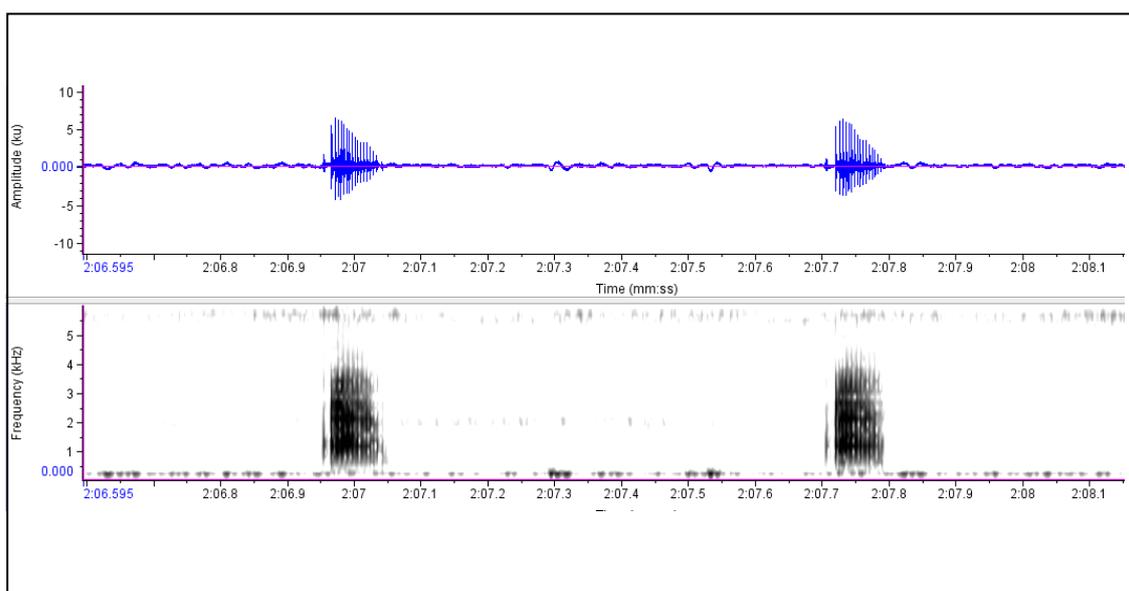
Fonte: Do autor.

Nota: Indivíduo 31 gravado no dia 26/02/2013, às 22:15h, temperatura do ar: 27°C.

2.4.4 *Aparasphenodon arapapa*

Aparasphenodon arapapa apresenta uma distribuição restrita a algumas cidades do estado da Bahia: Cairu, Itiberá, Ilhéus e Una (LANTYER-SILVA, 2013). Esta espécie usa bromélias como locais de abrigo e sítio reprodutivo (LANTYER-SILVA, 2013). Os indivíduos são de pequeno porte (57,4-58,1 mm) e o seu canto de anúncio (FIGURA 7) foi descrito como sendo composto por uma nota multipulsionada com duração de 130 a 180 ms (LOURENÇO-DE-MORAES et al., 2013).

Figura 7- Oscilograma e espectrograma do canto de anúncio de *Aparasphenodon arapapa*, em Ilhéus-BA.



Fonte: Do autor.

Nota: Indivíduo 102 gravado no dia 26/05/2012, às 18:58h, temperatura do ar 23,9°C.

2.5 TERMOS BIOACÚSTICOS

Nas diferentes áreas que usam a bioacústica como ferramenta de estudo, há certas diferenças quanto aos termos acústicos utilizados. Nesse estudo, seguimos algumas definições da área herpetológica, propostas por Bastos et al. (2003) e Toledo e Haddad (2005):

Canto: emissões sonoras produzidas em determinada sequência, constituído por uma única nota (canto simples), uma série de notas idênticas ou grupos de notas diferentes (canto composto).

Nota: unidade temporal que constitui o canto, também formada por pulsos.

Pulsos: impulsos energéticos enfatizados no espectro temporal de uma nota.

Frequência dominante: frequência da vocalização com maior energia acústica (BASTOS et al., 2003, p.22; TOLEDO; HADDAD, 2005. p.6).

2.6 IMPORTÂNCIA DO ESTUDO

Ao evidenciar a presença de variação nas propriedades acústicas das espécies-alvo, nosso estudo pode servir de base para outros trabalhos que investigam o comportamento vocal em anfíbios anuros. Como estudos que buscam um melhor entendimento sobre como as fêmeas reconhecem as variações que podem ocorrer no canto de anúncio dos machos específicos, quais propriedades acústicas são mais atrativas na escolha de seus parceiros, como o trabalho realizado por Gerhardt e Huber (2002), se ocorre e como ocorre o reconhecimento entre machos estranhos (por exemplo: machos de diferentes corpos d'água) e também entre os "vizinhos" (machos da mesma lagoa) (BEE, GERHARDT, 2001).

Todas essas questões são importantes e podem acrescentar informações mais detalhadas sobre a comunicação entre anuros, uma vez que a vocalização é a principal forma de comunicação entre os indivíduos deste grupo (DUELLMAN & TRUEB, 1986). Além disso, esse conhecimento oferece maior suporte e consistência para a compreensão da história natural das espécies, sendo importante para se obter maior e mais detalhado diagnóstico de nossa fauna (DELGADO, 2013).

REFERÊNCIAS

- ADES, C. Uma aproximação às vocalizações do muriqui (*Brachyteles arachnoides*). **Temas em Psicologia**, v. 3, 1997.
- AUBIN, T. et al. Acoustic communication in the Kittiwake *Rissa tridactyla*: potential cues for sexual and individual signatures in long calls. **Polar Biology**, v. 30, p.1027-1033, 2007.
- BASTOS, R. P. et al. Padrões de vocalização de anúncio em cinco espécies de Hylidae (Amphibia: Anura) do Brasil central. Comunicação do Museu de Ciências e da PUCRS, **Série Zoológica**, v.16, p. 39-51, 2003.
- BASTOS, R. P.; HADDAD, C. F. B. Atividade reprodutiva de *Scinax rizibilis* (Bokermann) (Anura, Hylidae) na Floresta Atlântica, sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, v.16, n. 2, p. 409-421, 1999.
- BASTOS, R. P.; HADDAD, C. F. B. Vocalizations and acoustic interactions in *Hyla elegans* (Anura, Hylidae) during the reproductive activity. **Naturalia**, São Paulo, v.20, p.165-176, 1995.
- BASTOS, R. P. et al. **Anfíbios da Floresta Nacional de Silvânia, estado de Goiás. Goiânia**: R. P. Bastos, 2003, 82p..
- BEE, M. A.; GERHARDT, H. C. Individual voice recognition in a territorial frog (*Rana catesbeiana*). **Proceedings of the Royal Society B**, v. 269, p. 1443-1448, 2002.
- BEE, M.A. Sound source perception in anuran amphibians. **Current Opinion in Neurobiology**, v. 22, p. 301-310, 2012.
- BEE, M. A.; GERHARDT, H. C. Neighbor-stranger discrimination by territorial bullfrogs (*Rana Catesbeiana*): I. Acoustic basis. **Animal Behavior**, v. 62, p. 1129-1140, 2001.
- BEECHER, M. D. Signaling systems for individual recognition: an information theory approach. **Animal Behavior**, v. 38, p. 248-261, 1989.

BERTOLUCI, J.; RODRIGUES, M.T. Seasonal patterns of breeding activity of Atlantic rainforest anurans at Boracéia, southeastern Brazil. **Amphibia-Reptilia**, v. 23, n. 2, p. 161-167, 2002.

BLAIR, W.F. Mating call and stage of speciation in the *Microhyla olivacea* - *M. carolinensis*. **Evolution**, v. 9, p. 469-480, 1955.

BOSCH, J.; MARQUEZ, R. Female courtship call of the Iberian midwife toad (*Alytes cisternasii*). **Journal of Herpetology**, v. 35, n. 4, p. 647-652, 2001.

BOSCH, J.; RAND, A.S.; RYAN, M.J. Signal variation and call preferences for whine frequency in the túngara frog, *Physalaemus pustulosus*. **Behavioral Ecology Sociobiology**, v. 49, p. 62-66, 2000.

BRIGGS, V. S. Call Trait Variation in Morelett's Tree Frog, *Agalychnis moreletii*, of belize. **Herpetologica**, v. 66, p. 241-249, 2010.

BUENO, M. A. F. et al. Padrão de vocalização de anúncio em espécies de Hylidae (Anura) do Brasil Central. **Comunicações do Museu de Ciências e Tecnologia da PUCRS, Série Zoológica**, v.16, p. 39-51, 2003.

CARDOSO, A. J. ; ANDRADE, G. V.; HADDAD, C. F. B. Distribuição espacial em comunidades de anfíbios (Anura) no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 49, p. 241-249, 1989.

CARO, T. **Behavioral Ecology and Conservation Biology**, Oxford University Press, New York, 1998, 599p.

DAVIS, M. S. Acoustically mediated neighbor recognition in the North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 21, 185-190, 1987.

DELGADO, D. B. **História natural de *Hypsiboas prasinus* (anura: Hylidae) na Serra do Japi, município de Jundiaí, São Paulo, Brasil**. 2013.110F. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas- Zoológica), Universidade Estadual de São Paulo, 2013.

DOBSON, F. S.; JOUVENTIN, P. How mothers find their pups in a colony of Antarctic fur seals. **Behavioural Processes**, n. 61, p. 77-85, 2003.

DREISS, A.N.; RUPPLI, C.A.; ROULIN, A. Individual vocal signatures in barn owl nestlings: does individual recognition has an adaptive role in sibling vocal competition? **Journal Evol. Biol.**, p. 1-13, 2013.

DUELLMAN, W. E.; TRUEB, L. **Biology of Amphibians**. Baltimore: The Johns Hopkins University Press. 670p, 1994.

DUELLMAN, W. E.; TRUEB, L. **Biology of Amphibians**. McGraw-Hill Book Company, New York, 1986, 670p.

DUELLMAN, W. E. **The hylid frogs of Middle America**. 1970. 753f. Monographs of the Museum of Natural History, University of Kansas, Lawrence, 1970.

EVANS, R. M. Imprinting and mobility in young ring-billed gulls, *Larus delawarensis*. **Animal Behaviour**, p. 193-248, 1970.

FROMMOLT, K.; GOLTSMAN, M. E.; MACDONALD, D. W. Barking foxes, **Alopex lagopus**: Field experiments in individual recognition in a territorial mammal. **Animal Behaviour**, v. 65, p. 509-518, 2003.

FROST, DARREL R. 2014. **Amphibian Species of the World: an Online Reference**. Version 6.0 (29/06/2014).. Disponível em: < <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>.> American Museum of Natural History, New York, USA. Acesso: 29 Jun.2014

GERHARDT, H. C.; HUBER, F. **Acoustic Communication in Insects and Anurans: Common Problems and Diverse Solutions**. Chicago: Chicago University Press, 2002.

GERHARDT, H. C. Female mate choice in treefrogs: static and dynamic acoustic criteria. **Animal Behaviour**, v. 42, p. 615- 635, 1991.

GIACOMA, C.; ZUGOLARO, C.; BEANI, L. The advertisement calls of the green toad (*Bufo viridis*): variability and role in mate choice. **Herpetologica**, v. 53, p. 454-464, 1997.

GUIMARÃES, L. D.; BASTOS, R. P. Vocalizações e interações acústicas em *Hyla raniceps* (Anura, Hylidae) durante a atividade reprodutiva. **Iheringia, Série Zoológica**, n. 2, v. 93, p. 149-158, 30 de jun. 2003.

HADDAD, C. F. B. Satellite behavior in the Neotropical treefrog *Hyla minuta*. **Journal of Herpetology**, v.25, p. 226-229, 1991.

HADDAD, C. F. B.; SAZIMA, I. Anfíbios anuros da Serra do Japi, p. 188-211. In: MORELLATO, L. P. C. (Ed.). **História natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal no Sudeste do Brasil**. Campinas, Editora da Unicamp, FAPESP, 1992, 321p.

HADDAD, C. F. B. **Comportamento reprodutivo e comunicação sonora de *Hyla minuta* PETERS, 1872 (AMPHIBIA, ANURA, HYLIDAE)**. 1987. 140f. Dissertação (Mestrado em Biologia/ Ecologia), UNICAMP, Campinas, 1987.

HALLIDAY, T. R.; SLATER, P. J. B. **Animal Behaviour Communication**. Oxford: Blackwell Scientific, v. 2, p. 1-8, 1983.

HEYER, W. R. et al.1990. Frogs of Boracéia. **Arquivos de Zoologia**, v. 31, p. 231-410.

HOWARD, R. D. Sexual selection on male body size and mating behaviour in American toads, *Bufo americanus*. **Animal Behaviour**, v. 36, p.1796-1808, 1988.
JENKS, A. R. **Adaptive Dynamic Primate Social Structure and the Evolution of Referential Communication**. 2009. 273 f. Dissertation (Bachelor of Science in Computer Science), University of Bath, 2009.

KELLEY, D. B. Vocal communication in frogs. **Neurobiology of Behavior**, v 14, p. 751-757, 2004.

KNÖRNSCHILD, M.; FEIFEL, M.; KALKO, E. K. V. Mother e offspring recognition in the bat *Carollia perspicillata*. **Animal Behaviour**, v. 86, p. 941- 948, 2013.

KWET, A.; MIRANDA, T. *Hyla prasina*. First record. **Herpetological. Review.**, v 32, p. 271- 271, 2001.

LANTYER SILVA, A. S. F. **Ecologia reprodutiva de *Aparasphenodon arapapa pimenta*, Napoli ; Haddad, 2009 (Anura: Hylidae)**. 2013. 80f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação da Biodiversidade), Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2013.

LINGNAU, R. **Distribuição temporal, atividade reprodutiva e vocalizações em uma assembléia de anfíbios anuros de uma Floresta Ombrófila mista em Santa Catarina, sul do Brasil.** 2009.103f. Tese (Programa de Pós-Graduação em Zoologia)- Faculdade de Biociências, PUCRS, Porto Alegre, 2009.

LINGNAU, R.; BASTOS, R. 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, n. 17-20, p. 1227-1235, 2007.

LINGNAU, R.; GUIMARÃES, L. D.; BASTOS, R. P. Vocalizações de *Hyla wernerii* (Anura, Hylidae) no sul do Brasil. **Phyllomedusa**, v. 3, n. 2, p. 115-120, 2004.

LOURENÇO-DE-MORAES, R. et al. "Tadpole, Oophagy, Advertisement Call and Geographic Distribution of *Aparasphenodon arapapa* Pimenta, Napoli and Haddad 2009 (Anura, Hylidae)." **Journal of Herpetology**, v. 47, n. 4, p. 575-579, 2013.

LUO, Z. et al. Outbreeding avoidance as probable driver of mate choice in the Asiatic toad. **Journal of Zoology**, p.1-9, 2014.

MARCELINO, V. R.; HADDAD, C. F. B.; ALEXANDRINO, J. Geographic Distribution and Morphological Variation of Striped and Nonstriped Populations of the Brazilian Atlantic Forest Treefrog *Hypsiboas bischoffi* (Anura: Hylidae). **Journal of Herpetology**, v. 43, n. 2, p. 351- 361, 2009.

MARTIN, W. F. Evolution of vocalizations in the genus *Bufo*. In: BLAIR, W. F. (editor). **Evolution in the genus *Bufo***. Austin, University of Texas Press, 1972.

MARTINS, M. E.; HADDAD, C. F. B. Vocalizations and reproductive behaviour in the smith frog, *Hyla faber* Wied (Amphibia: Hylidae). **Amphibia-Reptilia**, v. 9, p. 49-60, 1988.

MARTINS, M. História natural do sapo ferreiro (*Hyla faber* Wied) na região de Campinas, Estado de São Paulo. Dissertação (Mestrado), UNICAMP, Campinas, 1990.

MARTINS, M. E. Observations on the reproductive behavior of the smith frog, *Hyla faber*. **Herpetology Journal**, v. 3, p. 31-34, 1993.

MEDVIN, M. B.; STODDARD, P. K.; BEECHER, M. D. Signals for parent-offspring recognition: a comparative analysis of the begging calls of cliff swallows and barn swallows. **Animal Behaviour**, v. 45, p. 841-850, 1993.

MELO, G. V.; ROSSA-FERES, D. C. ; JIM, J. Variação temporal no sítio de vocalização em uma comunidade de anuros de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. **Biota Neotropica**, v. 7, n. 2, p. 93-102, 2007.

MENIN, M., SILVA, R. A.; GIARETTA, A. A. Reproductive biology of *Hyla goiana* (Anura: Hylidae). **Inheringia Série. Zoológica.**, Porto Alegre, v. 94, n. 1, p. 49-52, 2004.

NAVAS, C. A.; BEVIER, C. R. Thermal dependency of calling performance in the eurythermic frog *Colostethus subpunctatus*. **Herpetologica**, v. 57, p. 384-395, 2001.

NEFF, B. D.; PITCHER, T. E. Genetic quality and sexual selection: an integrated framework for good genes and compatible genes. **Molecular Ecology**, v.14, p. 19-38, 2005.

PETTITT, B. A. Advertisement Call Variation in the Golden Rocket Frog (*Anomaloglossus beebei*): Evidence for Individual Distinctiveness. **Ethology**, v.119, p. 244-255, 2013.

POMBAL JR., J. O espaço em uma taxocenose de anuros (amphibia) do sudoeste do Brasil. **Arquivos do Museu Nacional**, Rio de Janeiro, v. 68 p. 135-144, jan/jun, 2010.

POUGH, H. F.; JANIS, C. M.; HEISEU, J. B. **A vida dos vertebrados**. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2008.

REICHERT, M. S. Aggressive thresholds in *Dendropsophus ebraccatus*: habituation and sensitization to different call types. **Behaviour Ecology Sociobiology**, v. 64, p. 529-539, 2010.

REINKE, M.; DEIQUES, C. H. História natural da espécie *Hypsiboas leptolineatus* (Anura:Hylidae) no Parque Nacional de Aparados da Serra, RS, Brasil. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 5, p.188-196, 2010.

RYAN, M. J. The reproductive behavior of the bullfrog (*Rana catesbeiana*). **Copeia**, v. 1, p. 108-114, 1980.

SCHWARTZ, J. J.; BUCHANAN, B. W.; GERHARDT, H. C. Acoustic interactions among male gray treefrogs, *Hyla versicolor*, in a chorus setting. **Behavior Ecology Sociobiology**, v. 53, p. 9-19, 2002.

SCHWARTZ, J.J.; GERHARDT, H.C. Spatially mediated release from auditory masking in an anuran amphibian. **Journal of Comparative Physiology- A Sensory, Neural, and Behavioral Physiology**, v.166, p.37-41, 1989.

SEARCY, W. A. & NOWICKI, S. **The evolutions of animal communication**. Princeton University Press and copyrighted.2005.

SEYFARTH, R. M. et al. The central importance of information in studies of animal communication. **Animal Behaviour**, v. 80, p. 3-8. 2010.

SILVA, A. R.; MARTINS, I. A.; ROSSA-FERES, D . C. Bioacústica e sítio de vocalização em taxocenoses de anuros de área aberta no noroeste paulista. **Biota Neotrópica**, v. 8, Jul/Set, 2008.

SOUSA-LIMA, R. S.; PAGLIA, A. P.; FONSECA, G. A. B. Signature information and individual recognition in the isolation calls of Amazonian manatees, *Trichechus inunguis* (Mammalia: Sirenia). **Animal Behaviour**, v. 63, p. 301-310, 2002.

STEBBINS, C. R.; COHEN, N. W. **A Natural History of Amphibians**. Princeton, NJ: Princeton Univ. Press, 1995, 316 p.

SULLIVAN, B. K.; HINSHAW, S. H.1990. Variation in advertisement calls and male calling behavior in the spring peeper (*Pseudacris crucifer*). **Copeia**, p. 1146-1150, 1990.

TAYLOR, A. M.; REBY, D. The contribution of source–filter theory to mammal vocal communication research. **Journal of Zoology**, v. 280, p. 221-236, 2010.

TOLEDO, L. F.; HADDAD, C. F. B. Acoustic repertoire and calling behavior of *Scinax fuscomarginatus* (Anura Hylidae). **Journal of Herpetology** , v.39, p. 455-464, 2005.

TOLEDO, L. F. et al. Visual and acoustic signaling in three species of Brazilian nocturnal tree frogs (Anura, *Hylidae*). **Phyllomedusa**, v. 6, p. 1-80, 2007.

VIELLIARD, J. A diversidade de sinais e sistemas de comunicação sonora na fauna brasileira. In: Seminário Música Ciência Tecnologia: Acústica musical, 1,2004, **A diversidade de sinais e sistemas de comunicação sonora na fauna brasileira**, USP, São Paulo, 2004, p.145-152.

WALDMAN, B. Kinship, sexual selection, and female choice in toads. **Advances in Ethology**, p.32-200, 1997.

WELLS, K. D. **The effect of social interactions on anuran vocal behavior.** In: *The evolution of the Amphibian Auditory System*. FRITZSCH, B.; RYAN, M. J.; WILCZYNSKI, W.; HETHERINGTON, T.E.; WALKOWIAK, W (editores). John Wiley and Sons, New York, 1988.

WELLS, K. D. The social behaviour of anuran amphibians. **Animal Behaviour**, v. 25, p. 666-693, 1977a.

WELLS, K. D. "The courtship of frogs." The reproductive biology of amphibians. **Springer**, p. 233-262, 1977b.

WILEY, R. H. Specificity and multiplicity in the recognition of individuals: implications for the evolution of social behavior. **Biological Reviews**, v. 88, p. 179-195, 2013.

ZINA, J.; HADDAD, C. F. B. Acoustic repertoire of *Aplastodiscus arildae* e *A. leucopygius* (Anura: Hylidae) in Serra do Japi, Brazil. **South American Journal**, v.1, p. 227-236, 2006.

ARTIGO

EVIDÊNCIAS DE INDIVIDUALIZAÇÃO, MAS NÃO DE ASSINATURA VOCAL NOS CANTOS DE QUATRO HILÍDEOS NEOTROPICAIS.

Josiane, S. R., Juliana, B. R.; Amanda, R. A.; Ana Laura, B.; Hayla, V. P. V.; Amanda, S. F. L-S.; Vinícius, X. S.; Rogério, G. T. da. C.

Resumo

Dois aspectos do canto de anúncio dos anuros ainda não são totalmente compreendidos, mas podem ser muito influenciados por variações do comportamento reprodutivo: 1) ocorrência de variações individuais nas propriedades acústicas e 2) transmissão da identidade do macho emissor. O primeiro pode servir para segregação individual ou quantificação dos indivíduos cantando, sem necessariamente identificá-los. O último aspecto pode funcionar justamente para qualificar ou reconhecer esses indivíduos, sendo também chamado de assinatura vocal. Acreditamos que comportamentos reprodutivos diferentes, como por exemplo, machos territorialistas e machos formadores de coro, exerçam pressões seletivas distintas sobre esses aspectos do canto de anúncio. Diante disso, o objetivo desse trabalho foi testar as hipóteses de segregação individual e assinatura vocal em quatro espécies de hilídeos neotropicais. Gravamos 600 cantos de *Hypsiboas faber*, 510 de *Aparasphenodon arapapa*, 380 de *Hypsiboas bischoffi* e 98 de *Hypsiboas prasinus*, em localidades distando até 1.580 km. Analisamos cinco variáveis espectrais do canto (todas em KHz): frequência 5%, frequência 95%, bandwidth 90%, frequência dominante e frequência central, e quatro variáveis temporais: duração 90%, delta time, intervalo entre pulsos ou notas e número de pulsos. Essas variáveis foram exploradas por Análise de Componentes Principais (PCA) e as hipóteses foram testadas por Análise de Variância Multivariada não-paramétrica (PERMANOVA) e pelos Coeficientes de Variação intraindividual e interindividual (CV_w e CV_a). Corroboramos a hipótese de segregação individual, mas refutamos a hipótese de assinatura vocal no canto de anúncio de todas as espécies estudadas, independente do comportamento territorialista ou formador de coro. Essa alta variabilidade registrada no canto dessas espécies permite separar os diferentes

indivíduos, mas isso não significa que essas diferenças sejam reconhecidas por outros machos ou fêmeas. Esse estudo mostra como as vocalizações dos anuros são mais flexíveis e complexas do que imaginamos.

Palavras-chave: Segregação do canto, canto de anúncio, *Hypsiboas faber*, *Hypsiboas prasinus*, *Hypsiboas bischoffi*, *Aparasphenodon arapapa*.

Introdução

A comunicação sonora entre anfíbios anuros apresenta relação direta com o período reprodutivo das espécies (Wells 1977). Neste período normalmente os machos se concentram nos corpos d'água para atrair suas parceiras através da emissão do canto de anúncio. Contudo, a função do canto de anúncio não se aplica apenas em atrair suas parceiras, mas serve também para o isolamento reprodutivo (Blair, 1955), anunciar a posição espacial de um macho em relação aos seus vizinhos (Wells 1977; Narins et al. 2007), além de informações relacionadas à fisiologia e morfologia do macho vocal (Halliday & Slater 1983).

Além dessas funções, o canto de anúncio pode apresentar dois aspectos adicionais não totalmente compreendidos e, apesar de distintos, ainda muito confundidos entre si. Esses dois aspectos são a variação interindividual e a assinatura vocal. O primeiro deles já foi observado em algumas espécies, como *Lithobates catesbeianus* (Bee & Gerhardt 2001; 2002) e *Anomaloglossus beebei* (Pettitt et al. 2013). Essa variação pode ser extremamente vantajosa para o indivíduo sob o ponto de vista evolutivo e sexual (Gerhard & Huber 2002) e já se sabe que parte dessa variação depende das características morfológicas dos indivíduos (como tamanho e biomassa), mas também do ambiente (propriedades abióticas como temperatura do ar e umidade) (Wells 1977; Narins et al. 2007). Essa variação interindividual no canto de anúncio pode possibilitar a segregação entre os indivíduos da espécie (Bee & Gerhardt 2002; Davis 1987), ou alguma estimativa aproximada de quantidade de indivíduos, mas não necessariamente o reconhecimento de cada indivíduo. Essa é justamente a diferença entre a simples variação interindividual e a assinatura vocal. Nessa última, cada exemplar é reconhecido por seu padrão vocal único entre os demais da mesma espécie (Beecher 1989). Neste caso, mais importante que quantificar é qualificar. A assinatura vocal pode ser mais facilmente evidenciada em espécies coloniais, como

uma ferramenta essencial para evitar a troca de filhotes ou para facilitar o reconhecimento de filhotes ou parceiros sexuais (Knörnschild et al. 2013), e também em espécies territorialistas (Temeles 1994).

É possível prever, portanto, que anuros com comportamentos reprodutivos distintos podem gerar pressões seletivas diferentes sobre esses dois aspectos do canto de anúncio. Em espécies formadoras de coro, por exemplo, esperaríamos uma tendência maior para a quantificação (segregação através da variação interindividual sem a necessidade de reconhecimento individual). Já em anuros territorialistas, que são mais intolerantes, a pressão seletiva maior deve ser pela qualificação (reconhecimento dos rivais) (Bee & Gerhardt 2001, 2002).

Por isso, o entendimento das informações individuais transmitidas pelo canto de anúncio pode acrescentar pistas de como é feito o reconhecimento entre indivíduos coespecíficos, quais estratégias são usadas para melhor discriminar os contextos sociais desse canto, e as forças seletivas envolvidas na escolha que as fêmeas fazem de seus parceiros, de acordo com as propriedades acústicas específicas emitidas por cada indivíduo vocalizador (Gerhardt 1991; Gerhardt & Huber 2002).

Este trabalho procurou então investigar o canto de anúncio de quatro hílideos neotropicais, dois territorialistas e dois formadores de coro, a fim de testar três hipóteses: 1) ocorrência de segregação individual nos membros coespecíficos cantando simultaneamente; 2) ocorrência de assinatura vocal no mesmo indivíduo cantando em noites diferentes e, caso essa hipótese seja corroborada; 3) ocorrência de assinatura vocal mais evidente nas espécies territorialistas que formadoras de coro. Nossos resultados corroboraram a primeira hipótese, mas refutaram as duas últimas.

Materiais e Métodos

Área de estudo

Nosso trabalho foi executado em quatro localidades de três Estados brasileiros: Reserva Boa União localizada no município de Ilhéus-BA (15° 04' S, 39° 03' W), Fazenda Nova Floresta em Guaxupé- MG (21° 18' S, 46° 40' W), Reserva Particular do Patrimônio Natural Fazenda Lagoa em Monte Belo-MG (21°24'S,

40°16' W) e Condomínio Clube da Montanha em Atibaia-SP (23° 34' S, 46° 32' W'). Diferentes localidades foram selecionadas a fim de estudar diferentes populações.

As localidades nos Estados de Minas Gerais (MG) e São Paulo (SP) apresentam remanescentes de Mata Atlântica Estacional Semidecidual. Já a Reserva Boa União é coberta por Floresta Mussununga, uma fitofisionomia da Mata Atlântica do sul da Bahia, caracterizada por árvores menores em solo arenoso (Thomas 2003), assemelhando-se a uma restinga arbórea (Lantyer-Silva 2013).

Modelo biológico do estudo

As espécies de anuros escolhidas para o presente estudo pertencem à família Hylidae: *Aparasphenodon arapapa* Pimenta, Napoli & Haddad, 2009, *Hypsiboas faber* Wied & Neuwied, 1821, *Hypsiboas bischoffi* Boulenger, 1887 e *Hypsiboas prasinus* Burmeister, 1856. Esta família possui espécies com ampla distribuição (com exceção de *Aparasphenodon arapapa*, cuja distribuição conhecida é restrita ao Sul da Bahia), de fácil visualização e com grande número de indivíduos no período reprodutivo (Haddad 1987; Martins 1993; Menin et al. 2004; Melo et al. 2007). Todas estas características favorecem a escolha desses anuros para testar hipóteses sobre vocalização e os diferentes contextos ecológicos e evolutivos envolvidos (Bastos & Haddad 1995; Zina & Haddad 2006).

Amostragem

Os cantos de anúncio foram gravados durante a estação chuvosa, nos meses de pico reprodutivo das espécies (período de reprodução das espécies). Coletamos os dados de *A. arapapa* em novembro de 2011, maio a agosto de 2012 e outubro de 2012. *H. faber* em dezembro de 2012, fevereiro e março de 2013 e novembro de 2013. *H. prasinus*: em fevereiro de 2014 e *H. bischoffi*: em dezembro de 2013 e janeiro de 2014, com um esforço total de 768 horas. homem (128 horas por 6 pessoas).

Os machos tiveram suas vocalizações registradas por meio de um gravador digital portátil Sony Zoom H4n com microfone interno e para gravação dos indivíduos da espécie *A. arapapa* foi utilizado o gravador Marantz-PMD660, com o auxílio de um microfone unidirecional Sennheiser[®]ME45. Dois indivíduos de *H. bischoffi* foram

gravados por um iPhone Apple (modelo 5), mas as vocalizações registradas por equipamentos diferentes não foram utilizadas juntas na mesma análise.

As gravações foram registradas no formato WAV, com uma taxa de amostragem de 44.100 kHz e 16 bits em mono, a uma distância de 0,5 a 1 m dos machos vocalmente ativos. Para as gravações realizadas no iPhone seguimos a mesma configuração, mas no modo estéreo. Nós registramos gravações sequenciais de um mesmo macho, de cada uma das quatro espécies, em um tempo estimado de 5 a 10 minutos por gravação, com repetições de gravações na mesma noite e em noites diferentes.

Juntamente com cada gravação registramos a temperatura e umidade do ar por meio de um termo-higrômetro digital. O termo-higrômetro foi colocado o mais próximo possível do sítio de vocalização de cada macho. Após cada gravação, o indivíduo foi capturado e pesado com uma Pesola® com precisão de 0,1g (Cooper ET al. 1989). Medimos também o comprimento rostro-cloacal (CRC) com um paquímetro digital com precisão de 0,01 mm (Freitas 2008). Em cada indivíduo amostrado e capturado foi colocada uma cinta elástica numerada na região da cintura para servir de marcação (Bee & Gerhardt 2002), sendo solto em seguida. A cinta elástica era deixada um tanto frouxa para não comprimir o abdome do exemplar e caracteriza-se como marcação temporária, já que, depois de alguns meses, apodrece e cai. Esse procedimento foi testado como piloto antes da coleta efetiva dos dados e os animais marcados retomavam o comportamento normal de vocalização assim que eram soltos.

Análises acústicas

As variáveis acústicas espectrais e temporais foram mensuradas das vocalizações gravadas por meio do software Raven 1.5 (Bioacoustics Research Program 2012). Cada indivíduo teve suas variáveis mensuradas através de uma ferramenta desse software que detecta a frequência em um dado tempo (Band Limited Energy Detector), e para isso informamos os limites de cada sinal sonoro para gerar as seleções. Posteriormente todos os sinais detectados, quando necessário, foram corrigidos.

Para a configuração do espectrograma utilizamos a janela Hann, com o tamanho de 512 pontos (FFT size), 50% de sobreposição de quadro, 5,8 ms de

resolução de tempo e 86,1 kHz de resolução de frequência (DFT size=512 amostras) ao extrair as variáveis espectrais de todas as espécies em estudo. O tamanho da janela variou, entre os valores de 64 pontos (FFT size), 50% de sobreposição de quadro, 0,7 ms de resolução de tempo e 689 kHz de resolução de frequência (DFT size=64 amostras) para *H. bischoffi* e *H. prasinus*, 256 pontos (FFT size), 50% de sobreposição de quadro, 2,9 ms de resolução de tempo e 172 kHz de resolução de frequência (DFT size=256 amostras) para *A. arapapa* e 512 pontos (FFT size) para *H. faber*.

Após a configuração do espectrograma selecionamos cinco variáveis espectrais (todas em kHz) para análise: frequência 5%, frequência 95%, bandwidth 90%, frequência dominante e frequência central. Para definir as variáveis temporais de *H. bischoffi* nós seguimos o estudo de Cardoso (2009), e para *H. prasinus* seguimos Delgado (2013). Nas demais espécies nós observamos a estrutura do canto de anúncio, pelo espectrograma, para selecionar as seguintes variáveis temporais: duração 90% da nota ou pulso, delta time, intervalo entre pulsos ou entre notas e o número de pulsos.

Para extrair os valores de cada variável realizamos um sorteio aleatório, gerado no Microsoft Excel 2010, de 30 notas do canto de *H. faber* e *A. arapapa*. As demais espécies tiveram uma variação de acordo com o número de notas emitidas pelos indivíduos e com o tipo de canto. Para *H. bischoffi* selecionamos 55 notas A e 325 notas B, com a seguinte sequência das notas: A, B, AA, AB e AAB. E para *H. prasinus* foram cinco notas A, uma nota B e cinco notas C de cada indivíduo.

Análises de correlação

Inicialmente verificamos a normalidade dos dados pelo teste de Shapiro–Wilk para, em seguida, testarmos a correlação das variáveis acústicas (variável dependente) em relação às variáveis corporais (comprimento rostro-cloacal- CRC e biomassa) e climáticas (temperatura e umidade do ar), por meio de correlação de Pearson (para amostras normais) ou de Spearman (distribuições não normais).

Nos casos de correlação significativa (ver material suplementar S1), ou seja, quando confirmada o efeito de alguma variável corporal ou climática nas variáveis acústicas, utilizamos a equação de regressão linear, com base em Platz & Forester (1988) e Pettitt et al. (2013), para normalizar os valores acústicos tirando a influência

das variáveis associadas. Extraímos o coeficiente de regressão b de cada equação da regressão linear ($y=bx+a$) das correlações significativas ($p<0,05$) e o substituímos na função: Variável acústica normalizada para variável abiótica mais próxima do valor médio = Variável acústica_{ambiental} – (Variável abiótica_{ambiental} – Variável abiótica_{mais próxima do valor médio}) × (coeficiente b). Adotamos a temperatura de 23,3°C e biomassa de 3,8g nas análises de *A. arapapa* e temperatura de 24,1°C e 81% de umidade nas análises de *H. faber*. Todos os valores adotados são os mais próximos da média. Nas análises de *H. prasinus* não houve correlação significativa no canto A, dispensando a necessidade de normalização. No canto B dessa espécie houve correlação com a temperatura (valor mais próximo da média = 27,2° C). No canto C houve correlação com a umidade (valor mais próximo da média = 61%) e simultaneamente da biomassa e do CRC com o mesmo parâmetro acústico (BW90%), provavelmente pela associação lógica entre massa e tamanho. Como consideramos a biomassa um parâmetro mais fiel das dimensões corporais, pois dois indivíduos podem ter CRCs próximos, mas variarem muito na biomassa. Devido a isso adotamos a normalização (valor mais próximo da média = 5,7g). Não foi possível testar correlações em *H. bischoffi* devido ao baixo número de indivíduos. Essas análises foram conduzidas no programa Bioestat 5.0 (Ayres et al. 2007).

Individualização e assinatura vocal

Para as análises de individualização no canto, após as normalizações, quando elas se fizeram necessárias, o novo conjunto de parâmetros acústicos foi submetido a três tipos de análises multivariadas desenvolvidas em sequência no software PAST versão 3.1 (Hammer 2001): 1) Análise de componentes principais (PCA) para exploração gráfica dos dados; 2) Testes de normalidade multivariada (assimetria, curtose e Doornik e Hansen omnibus; quando pelo menos um desses testes apresentou $p<0.05$, a distribuição já não é considerada normal); 3) Análise de variância multivariada não paramétrica (NPMANOVA ou PERMANOVA), já que a premissa de normalidade não foi atendida nenhuma vez, com distância euclidiana e comparação sequencial de Bonferroni nos casos de 3 ou mais grupos sendo comparados.

As análises multivariadas compararam duas situações: 1) variáveis acústicas de indivíduos diferentes cantando na mesma noite (neste caso, esperávamos

segregações significativas indicando individualização entre os exemplares testados) e 2) variáveis acústicas do mesmo indivíduo de regravações em momentos diferentes (neste caso, esperávamos segregações não significativas justamente por se tratar do mesmo indivíduo, o que daria indícios de assinatura vocal).

Adicionalmente verificamos a possibilidade de individualização do canto das espécies (com exceção da espécie *H. bischoffi*) por análise do coeficiente de variação ($CV=SD/X$, onde SD é o desvio padrão e X é média das variáveis acústicas extraídas do canto), cujo teste foi aplicado nas propriedades acústicas do canto do mesmo macho (within-individual $CV_w= 100\% \times SD_w/ X_w$; CV_w população sem as regravações) e entre machos da mesma espécie (among-individual $CV_a= 100\% \times grand\ SD/ grand\ X$; CV_a das gravações e regravações do mesmo indivíduo). Posteriormente calculamos a relação CV_a/CV_w , cujos valores maiores que 1 significam que é possível identificar aquele indivíduo entre os demais da população. Isso foi feito para cada variável bioacústica analisada em cada localidade (população). Apenas para os dados de *H. bischoffi* não foi possível aplicar esse teste. Os valores encontrados pelas análises dos coeficientes de variação intraindividual nós classificamos de acordo com Gerhardt (1991).

Resultados

Foram analisados 360 cantos de anúncio de 12 indivíduos de *H. faber*, além de 240 cantos regravados de oito dos 12 indivíduos. De *A. arapapa* foram 300 cantos de dez indivíduos mais 210 regravações de sete exemplares. De *H. bischoffi* foram 188 cantos de quatro exemplares e 192 cantos regravados de dois indivíduos. De *H. prasinus*, 72 cantos de seis indivíduos mais 26 cantos regravados de um exemplar.

As análises dos coeficientes de variação intra e interindividual mostraram uma categorização bem diversificada das variáveis (see Data S2 in Supporting Information). Quanto à relação entre CV_a e CV_w ($CV_a/CV_w > 1$), todas as três espécies apresentaram ao menos uma variável cuja relação entre os coeficientes foram maiores que 1. Esse resultado indica que os indivíduos de uma população podem ter o canto individualizado entre os demais, no mínimo em uma das propriedades bioacústicas, como em *H. faber*.

A individualização do canto das espécies em estudo também foi evidenciada em todas as análises de componentes principais (PCA) que mostraram segregação sem necessidade do 3º eixo. As variáveis acústicas que promoveram a segregação foram bem variáveis (Table 1). Essa tendência de segregação nos cantos gravados ocorreu tanto dentro de cada espécie na mesma noite (variação interindividual, Fig. 1), quanto no mesmo indivíduo em noites diferentes (variação intraindividual, Fig. 2).

Nessa última comparação (regravações dos mesmos indivíduos em noites diferentes), apenas dois indivíduos de *H. prasinus* (26 e 27, Fig. 3) não segregaram em um dos tipos de canto (A) e outros dois (31r e 36, Fig. 4) em outro (B), e dois indivíduos de *H. bischoffi* (21 e 22) não segregaram nem no canto A, nem no B (Table 1). Todas as regravações restantes segregaram tanto no PCA quanto na PERMANOVA. Como o número de regravações estatisticamente iguais foi considerado baixo, não conseguimos corroborar a presença de assinatura vocal em nenhuma das quatro espécies analisadas.

Discussão

Nossos resultados mostram ampla variação intraespecífica no canto de anúncio das quatro espécies estudadas, corroborando a hipótese de segregação individual. Essa variação nos parâmetros acústicos, no entanto, manteve-se quando comparadas as regravações do mesmo indivíduo em noites diferentes. Isso refutou a hipótese de assinatura vocal. Como esses dois resultados (individualização, mas sem evidência de reconhecimento) ocorreram igualmente nas quatro espécies analisadas, refutamos também a hipótese de que as espécies territorialistas (*A. arapapa* e *H. faber*) apresentariam maior tendência de assinatura vocal.

Um resultado positivo para a individualização do canto nas quatro espécies era esperado, de acordo com o que já foi registrado em outras espécies de anuros (Bee & Gerhardt 2001, 2002; Briggs 2010; Pettitt et al. 2013). Essa segregação foi confirmada por três análises diferentes: gráficos de PCA, análise de variância multivariada não-paramétrica e pelos coeficientes de variação (CV_a e CV_w) e sua relação ($CV_a/CV_w > 1$). Quanto aos coeficientes testados, nossos resultados mostram que em todas as espécies, a classificação foi bem diversificada, sendo que em *H. prasinus* e *H. faber* todas as três categorias (dinâmica, intermediária e estática)

foram detectadas. Pelo contrário, a espécie *A. arapapa* não apresentou qualquer variável estática, o que possivelmente indica um canto complexo.

Entre as variáveis estáticas classificadas por Gerhardt (1991), que são aquelas que tendem a ter menor variação, estão a frequência dominante e o intervalo entre os pulsos (Briggs 2010; Pettitt et al. 2013). Estas duas variáveis, de acordo com Schul e Bush (2002), estão relacionadas com o reconhecimento específico. Contudo, apenas em *H. faber* a frequência dominante foi estática, as demais foram mais variáveis (dinâmica ou intermediária). Já o intervalo entre os pulsos foi dinâmico em todas as espécies, diferindo do que já foi descrito para outras espécies de anuros (Briggs 2010; Pettitt et al. 2013). Esses resultados indicam que a maioria das variáveis acústicas das populações analisadas nesse estudo apresenta alta variabilidade acústica, superando as expectativas (Sullivan & Wagner 1988). Do ponto de vista da seleção sexual, porém, as variáveis consideradas dinâmicas (com tendência de grande variação) podem estar diretamente relacionadas à escolha dos machos pelas fêmeas. Isso explicaria porque em determinadas espécies as fêmeas preferem machos que detêm maior variação no canto, em vez dos cantores mais uniformes (Gerhardt 1991; Briggs 2010).

Já sabemos que parte dessa variação é decorrente de fatores bióticos (como biomassa e tamanho dos indivíduos) e abióticos (como temperatura e umidade do ar) (Gerhardt & Huber 2002; Guimarães & Bastos 2003; Silva et al. 2008). A maioria dos estudos com acústica de anuros encontra correlação entre a vocalização e temperatura do ar, tamanho corporal ou biomassa (Guimarães & Bastos 2003; Lingnau et al. 2004; Silva et al. 2008). Nosso estudo é um dos poucos que testou essa associação também com a umidade do ar. Após a temperatura, essa variável foi a que apresentou o maior número de associações (3 associações entre 10 registradas entre as espécies). A umidade demonstrou interferência direta na diminuição da frequência dominante, frequência central e duração 90% do canto. Isso deixa evidente que essa variável precisa ser considerada entre os fatores que interferem nas propriedades acústicas do canto de anuros. Outras associações se aproximaram de resultados já registrados (Gerhardt & Huber 2002; Silva et al. 2008), como em *A. arapapa*, em que a temperatura apresentou relação negativa com a frequência dominante. Entretanto, apesar de todos os testes de correlação significativos e dos extensos relatos na literatura, ainda não compreendemos totalmente o desempenho desses fatores bióticos e abióticos.

Outra explicação possível para a ampla variação observada nos cantos poderia ser o fadiga dos indivíduos ao longo da noite, já que vocalizar é uma atividade extremamente dispendiosa do ponto de vista energético (Pough et al. 2008). Essa hipótese, porém, também foi refutada por análises de regressão linear dos parâmetros acústicos em função do tempo de gravação (não descrito no Material e Métodos). Muitos dos parâmetros não apresentaram perda de energia significativa, ou foram aleatórios, ou até crescentes em relação ao tempo de gravação.

Mas o resultado que nós mais estranhemos foram as fracas evidências de assinatura vocal, principalmente nas espécies com comportamento territorialista (*A. arapapa* e *H. faber*), fortes candidatas a possuir um padrão de reconhecimento individual (Temeles 1994). Uma possibilidade é a de que esse reconhecimento não seja assim tão desenvolvido em anuros como se supunha, principalmente quando comparados a grupos de vertebrados mais recentes com assinatura vocal, como diversas espécies de aves e mamíferos (Sousa-Lima et al. 2002; Knörnschild et al. 2013; Dreiss et al. 2013). Uma argumentação alternativa poderia ser a abundância. Como as quatro espécies que estudamos são muito abundantes, chegamos a cogitar que em populações muito numerosas é mais difícil a assinatura vocal se fixar.

Embora exista a possibilidade da assinatura vocal não ser assim tão comum em anuros, nós ainda cogitamos que isso não foi suficientemente testado e que ela talvez seja até comum, visto que apresenta aparentes vantagens para seus detentores (Medvin et al. 1993; Knörnschild et al. 2013). Nosso estudo, porém, não obteve sucesso em detectá-la por alguns motivos possíveis. O primeiro deles é de cunho metodológico. A duração de cada gravação, por exemplo, pode não ter sido suficiente para registrar um padrão de assinatura vocal do canto de cada indivíduo. Isso pode ser corrigido com gravações ininterruptas e mais longas.

Finalmente, como o aspecto do reconhecimento individual é fundamental para a definição da assinatura vocal, sugerimos a aplicação de outros testes, como por exemplo, os baseados em “playbacks”, como preconizado por Beecher (1989). Isso evitaria a confusão comum entre segregação individual e assinatura vocal, uma vez que apenas o registro de individualização no canto das espécies não garante que os indivíduos se reconheçam individualmente (Insley et al. 2003). Ao mesmo tempo, um

aspecto pode levar ao outro: em muitos casos, as características que individualizam o canto de cada macho podem ser reconhecidas pelos demais indivíduos da espécie (Bee & Gerhardt 2002; Davis 1987), caracterizando a assinatura vocal.

Outros estudos que sugerimos a partir das dificuldades observadas neste trabalho incluem a discriminação entre vizinhos em espécies territorialistas, como *H. faber* e *A. arapapa*. Outra possibilidade que elas permitem é a procura por assinatura vocal no canto territorialista, uma vez que a discriminação entre indivíduos em espécies territoriais até o momento só foi demonstrada no canto de anúncio. Como a mensagem é específica para o macho oponente e pode ser útil para evitar o combate físico, seria vantajoso se ela fosse acompanhada pela capacidade de reconhecer individualmente seus rivais. Assim o indivíduo teria mais elementos para decidir se luta ou não. Espécies territorialistas permitem testar também outros parâmetros não-vocais que as fêmeas podem levar em consideração ao escolher um macho. Em *A. arapapa* que canta em bromélias, por exemplo, as fêmeas talvez prefiram algum aspecto associado ao local da oviposição, como bromélias maiores e/ou mais altas, em vez de aspectos exclusivamente acústicos do canto dos machos. Mas para testar parâmetros exclusivamente acústicos, uma linha de pesquisa que pode ser bastante útil, inclusive para verificar reconhecimento individual, é a produção de cantos sintéticos e posterior reprodução na natureza (Gerhardt 1991) ou em testes de arena (Waldman 1997). Assim é possível testar quais propriedades do canto dos machos as fêmeas preferem.

Apesar das dificuldades observadas, nosso estudo é um reforço à ideia de que o canto dos anuros é mais complexo do que se imaginava, trazendo mais elementos sobre a segregação individual, sua diferença em relação à assinatura vocal e a influência de fatores bióticos e abióticos sobre o canto de anúncio de quatro espécies de hílideos neotropicais em localidades distando até 1.580 km.

Agradecimentos

A Christiny Barbosa Caselli, Leandro Magrini, Érica Hasui e Fabiana Barros Rodrigues pelos comentários ao texto e a CAPES.

Referências

- Aubin, T. 2004: Penguins and their noisy world. *An Acad Bras Cienc.* **76**, 279-283.
- Ayres, M., Ayres-Júnior, M., Ayres, D. L. & Santos, A. A. 2007: *BIOESTAT – Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas.* Ong Mamiraua. Belém, PA.
- Bastos, R. P. & Haddad, C. F. B. 1995: Vocalizations and acoustic interactions in *Hyla elegans* (Anura, Hylidae) during the reproductive activity. *Naturalia* **20**, 65-176.
- Bee, M. A. & Gerhardt, H. C. 2002: Individual voice recognition in a territorial frog (*Rana catesbeiana*). *Proceedings of the Royal Society B* **269**, 1443-1448.
- Bee, M. A. & Gerhardt, H. C. 2001: Neighbor-stranger discrimination by territorial bullfrogs (*Rana catesbeiana*): I. Acoustic basis. *Anim. Behav.* **62**, 1129- 1140.
- Bee, M. A. 2012: Sound source perception in anuran amphibians. *Current Opinion in Neurobiology* **22**, 301-310.
- Beecher, M. D. 1989: Signaling systems for individual recognition: an information theory approach. *Animal Behav.* **38**, 248- 261.
- Bioacoustics Research Program (2012). In: Raven Pro, Interactive Sound Analysis Software, version 1.5. The Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, New York. <www.birds.cornell.edu/brp/raven/RavenPro1.5Features.pdf>
- Blair, W.F. 1955: Mating call and stage of speciation in the *Microhyla olivacea-M.carolinensis*. *Evolution* **9**, 469-480.
- Briggs, V. S. 2010: Call trait variation in morelett's tree frog, *Agalychnis moreletii*, of belize. *Herpetologica* **66**, 241-249.
- Cooper, J. E., Ewbank, R., Platt, C. & Warwick, C. 1989: *Euthanasia of amphibians and reptiles.* London, UFAW/ WSPA.
- Davis, M. S. 1987: Acoustically mediated neighbor recognition in the North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* **21**, 185-190.
- Dreiss, A. N.; Ruppli, C. A. & Roulin, A. 2013: Individual vocal signatures in barn owl nestlings: does individual recognition has an adaptive role in sibling vocal competition? *J. Evol. Biol.*, 1-13.
- Freitas, E. B. D., De-carvalho, C. B., Faria, R. G., Batista, C. C., Coelho, W. A. & Bocchiglieri, A. 2008: Nicho ecológico e aspectos da história natural de *Phyllomedusa azurea* (Anura: Hylidae, Phyllomedusinae) no Cerrado do Brasil Central. *Biota Neotropica* **8**, 101-110.
- Gerhardt, H. C. & Huber, F. 2002: *Acoustic Communication in Insects and Anurans: Common Problems and Diverse Solutions.* Chicago: Chicago University Press.

Gerhardt, H. C. 1991: Female mate choice in tree frogs: static and dynamic acoustic criteria. *Anim. Behav.* **42**, 615- 635.

Guimarães, L. D. & Bastos, R. P. 2003: Vocalizações e interações acústicas em *Hyla raniceps* (Anura, Hylidae) durante a atividade reprodutiva. *Iheringia, Sér. Zool.* **93**, 149-158.

Haddad, C. F. B. 1987: Comportamento reprodutivo e comunicação sonora de *Hyla minuta* PETERS, 1872 (AMPHIBIA, ANURA, HYLIDAE). Dissertação. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Brasil.

Halliday, T. R. & Slater, P. J. B. 1983: *Animal Behaviour Communication*. Blackwell Scientific, Oxford.

Hammer, O., Harper, D. A. T., Ryan, P. D. 2001. PAST. In: *Paleontological statistics software package for education and data analysis*. *Palaeontologia Electronica* 4(1): 9pp. <www.palaeoelectronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm>.

Insley, S. J., Phillips, A. V. & Charrier, I. 2003: A review of social recognition in pinnipeds. *Aquatic Mammals* **29.2**, 181–201.

Knörnschild, M., Feifel, M. & Kalko, E. K. V. 2013: Mother e offspring recognition in the bat *Carollia perspicillata*. *Anim. Behav.* **86**, 941- 948.

Lantyer- Silva, A. S. F. 2013. *Ecologia reprodutiva de Aparasphenodon arapapa pimenta*, Napoli & Haddad, 2009 (Anura: Hylidae). Dissertação, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Brasil.

Lingnau, R., Guimarães, L. D. & Bastos, R. P. 2004: Vocalizações de *Hyla weneri* (Anura, Hylidae) no Sul do Brasil. *Phyllomedusa* 3, 115-120.

Martins, M. E. & Haddad, C. F. B. 1988: Vocalizations and reproductive behaviour in the smith frog, *Hyla faber* Wied (Amphibia: Hylidae). *Amphibia-Reptilia* **9**, 49-60.

Martins, M. E. 1993: Observations on the reproductive behavior of the smith frog, *Hyla faber*. *Herpetol. Jour.* **3**, 31-34.

Medvin, M. B., Stoddard, P. K. & Beecher, M. D. 1993: Signals for parent-offspring recognition: a comparative analysis of the begging calls of cliff swallows and barn swallows. *Anim. Behav.* **45**, 841-850.

Melo, G. V., Rossa-Feres, D. C. & Jim, J. 2007: Variação temporal no sítio de vocalização em uma comunidade de anuros de Botucatu, Estado de São Paulo, Brasil. *Biota Neotropica* **7**, 93-102.

Menin, M., Silva, R. A. & Giaretta, A. A. 2004: Reproductive biology of *Hyla goiana* (Anura: Hylidae). *Iheringia Sér. Zool.* **94**, 49-52.

Narins, P. M., Feng, A. S., Fay, R. R. & Popper, A. N. 2007: *Hearing and Sound Communication in Amphibians*. New York: Springer.

- Pettitt, B. A. 2013: Advertisement Call Variation in the Golden Rocket Frog (*Anomaloglossus beebei*): Evidence for Individual Distinctiveness. *Ethology* **119**, 244-255.
- Platz, J. E. & Forester, D. C. 1988: Geographic variation in mating call among the four subspecies of the chorus frog: *Pseudacris triseriata* (Wied). *Copeia* **1988**, 1062—1066.
- Pough, H. F., Janis, C. M. & Heiseu, J. B. 2008: A vida dos vertebrados. 4. ed. São Paulo: Atheneu.
- Reichert, M. S. 2010: Aggressive thresholds in *Dendropsophus ebraccatus*: habituation and sensitization to different call types. *Behav. Ecol. Sociobiol.* **64**, 529–539.
- Schul, J. & Bush, S. L. 2002: Non-parallel coevolution of sender and receiver in the acoustic communication system of treefrogs. *Proc. Roy. Soc. Lond. B* **269**, 1847-1852.
- Schwartz, J. J. & Gerhardt, H.C. 1989: Spatially mediated release from auditory masking in an anuran amphibian. *Journal of Comparative Physiology- A Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* **166**, 37-41.
- Silva, A. R., Martins, I. A. & Rossa-Feres, D. C. 2008: Bioacústica e sítio de vocalização em taxocenoses de anuros de área aberta no noroeste paulista. *Biota Neotrop.* **8**, 123-134.
- Sousa-Lima, R. S., Paglia, A. P. & Fonseca, G. A. B. 2002: Signature information and individual recognition in the isolation calls of Amazonian manatees, *Trichechus inunguis* (Mammalia: Sirenia). *Anim. Behav.* **63**, 301- 310.
- Taigen, T. L. & Wells, D. 1986: Energetics of vocalization by anuran amphibian (*Hyla versicolor*). *Journal of Comparative Physiology* **155**, 163-170.
- Temeles, E. J. 1994: The role of neighbors in territorial systems- when are they dear enemies? *Anim. Behav.* **47**, 339-350.
- Thomas, W. W. 2003. Natural vegetation types in Southern Bahia. In: Corredor de Biodiversidade da Mata Atlântica do Sul da Bahia (Pp. 1-4. In: Prado, P.I., Landau, E.C., Moura, R.T., Pinto, L.P.S., Fonseca, G.A.B & Alger, K.) (orgs.) pp 1-4.
- Waldman, B. 1997: Kinship, sexual selection, and female choice in toads. *Adv. Ethol.* **32**, 200.
- Wells, K. D. 1988: The effect of social interactions on anuran vocal behavior. In: *The evolution of the Amphibian Auditory System*. Frittsch, B., Ryan, M. J.; Wilczynski, W., Hetherington, T.E. & Walkowiak, W (editores). John Wiley and Sons, New York.
- Wells, K. D. 1977a: The social behaviour of anuran amphibians. *Anim. Behav.* **25**, 666-693.

Wells, K. D. 1977b: "The courtship of frogs." The reproductive biology of amphibians. *Springer*, 233-262.

Wiley, R. H. 2013: Specificity and multiplicity in the recognition of individuals: implications for the evolution of social behavior. *Biological Reviews* **88**, 179-195.

Zina, J. & Haddad, C. F. B. 2006: Acoustic repertoire of *Aplastodiscus arildae* e *Aplastodiscus leucopygius* (Anura: Hylidae) in Serra do Japi, Brazil. *South American Journal* **1**, 227-236.

Anexos

Table 1: Bioacoustic segregation data of four neotropical anuran species (Spp.) of individuals and recordings (r) of the same individual. Aa: *Aparasphenodon arapapa*, Hb: *Hypsiboas bishoffi*, Hf: *Hypsiboas faber*, Hp: *Hypsiboas prasinus*, PB: Predominant behavior (T: territorialist, C: chorus forming), P: main discriminant bioacustical parameter, MANOVA: Multivariate Analysis of Variance (bold values indicate statistical significance).

Spp.	PB	Calling types	Compared individuals	Recording Date	Site	P	MANOVA
Aa	T	unique	140, 142	14/10/12	Ilhéus-BA	Freq5%	F=41,0, p=0,0001
			13, 109, 112	13/07/12	Ilhéus-BA	Freq5%	F=23,6, p=0,0001
			102, 102r	25 e 26/05/12	Ilhéus-BA	Peakfreq	F=9,9, p=0,0001
			112, 112r	13/07 e 30/08/12	Ilhéus-BA	Freq95%	F=11,2, p=0,0001
			142, 142r	14 e 21/10/12	Ilhéus-BA	Freq5%	F=25,4, p=0,0001
Hf	T	unique	2, 3	01/02/13	Guaxupé-MG	BW90%	F=8,3, p=0,0001
			2r, 6	02/02/13	Guaxupé-MG	Centerfreq	F=222,1, p=0,0001
			7, 8	03/02/13	Guaxupé-MG	Freq95%	F=140,0, p=0,0001
			10, 10r, 11	15 e 16/03/13	Guaxupé-MG	Dur90%	F=23,8, p=0,0001
			6, 7, 9, 10	23/11/13	Guaxupé-MG	Deltatime	F=137,4, p=0,0001
			2, 2r	01 e 02/02/13	Guaxupé-MG	Centerfreq	F=3000,0, p=0,0001
			1, 2	27/12/12	Monte Belo-MG	Freq5%	F=230,3, p=0,0001
			2r, 4	30/12/12	Monte Belo-MG	Freq5%	F=27,6, p=0,0001
	2, 2r	27 e 30/12/12	Monte Belo-MG	BW90%	F=17,4, p=0,0001		
Hp	C	A	26, 27	02/02/14	Atibaia-SP	-	F=2,4, p=0,1094
		B	31r, 36	27/02/14	Atibaia-SP	-	F=0,5, p=0,6287
		B	31, 31r	26 e 27/02/14	Atibaia-SP	PeakFreq	F=5,2, p=0,0072
		C	31, 32	26/02/14	Atibaia-SP	Freq95%	F=20,3, p=0,0001
Hb	C	A	4, X	14/12/13	Atibaia-SP	Centerfreq	F=11,8, p=0,0001
		B	4, X	14/12/13	Atibaia-SP	F5%	F=23,5, p=0,0001
		B	21, 22	18/01/14	Atibaia-SP	Centerfreq	F=1,7, p=0,1714
		A	21, 22	18/01/14	Atibaia-SP	Freq95%	F=2,7, p=0,0833

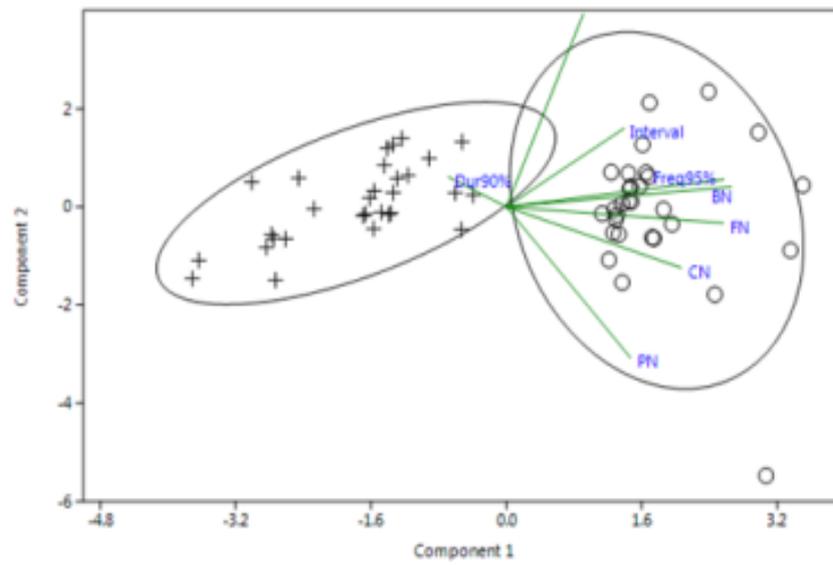


Fig. 1: Biplot graph of Principal Component Analysis with axes 1 and 2 presenting the variation of bioacoustic parameters for the advertisement call of two males (2 and 3) of *Hypsiboas faber* recorded in the same night (02/01/13). Crosses: male 2, White circles: male 3. The ellipses include 95% of the values of each male.

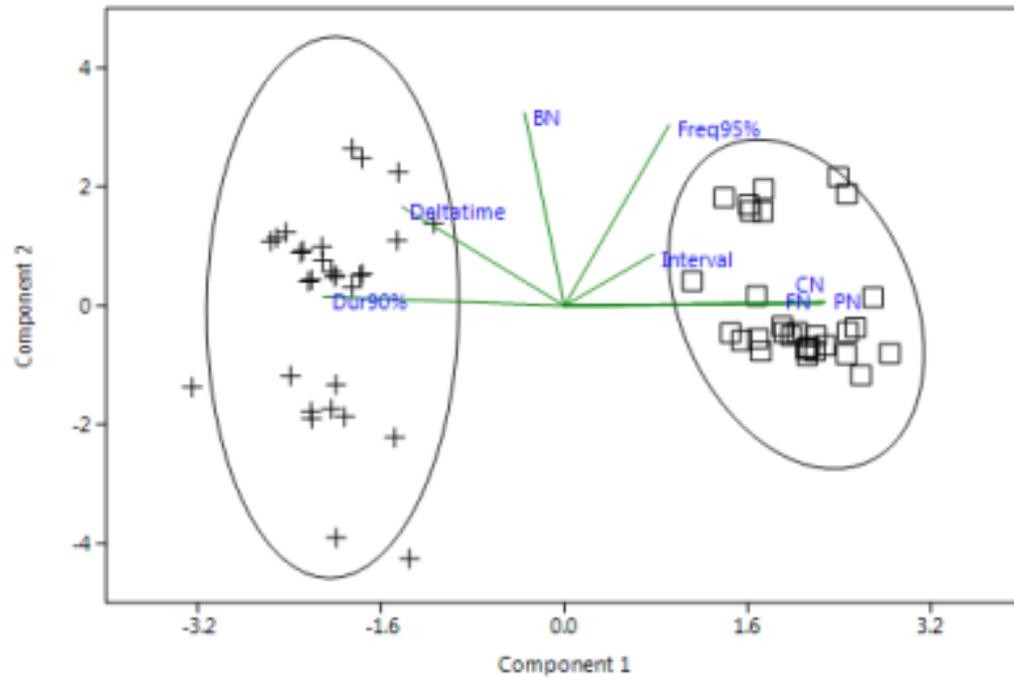


Fig. 2: Biplot graph of the Principal Component Analysis with the axes 1 and 2 presenting the variation of biacoustic parameters recorded of the advertisement call of a *Hypsiboas faber* male (2) in 02/01/13 and the rerecording in the following night (02/02/13). Crosses: first record, White squares: second record. The ellipses include 95% of the values of each individual.

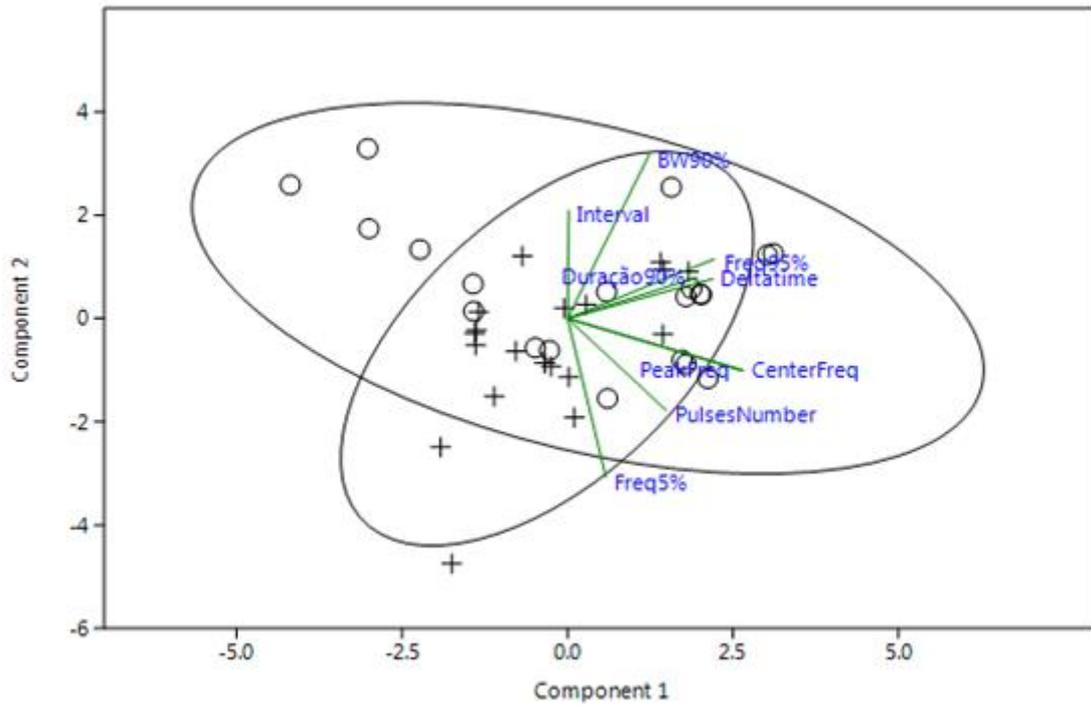


Fig. 3: Biplot graph of the Principal Component Analysis with the axes 1 and 2 presenting the variation of biacoustic parameters of the advertisement call type A of two *Hypsiboas prasinus* males (26 e 27) in 02/02/13. Crosses: male 26, White circles: male 27. The elipses include 95% of the values of each individual.

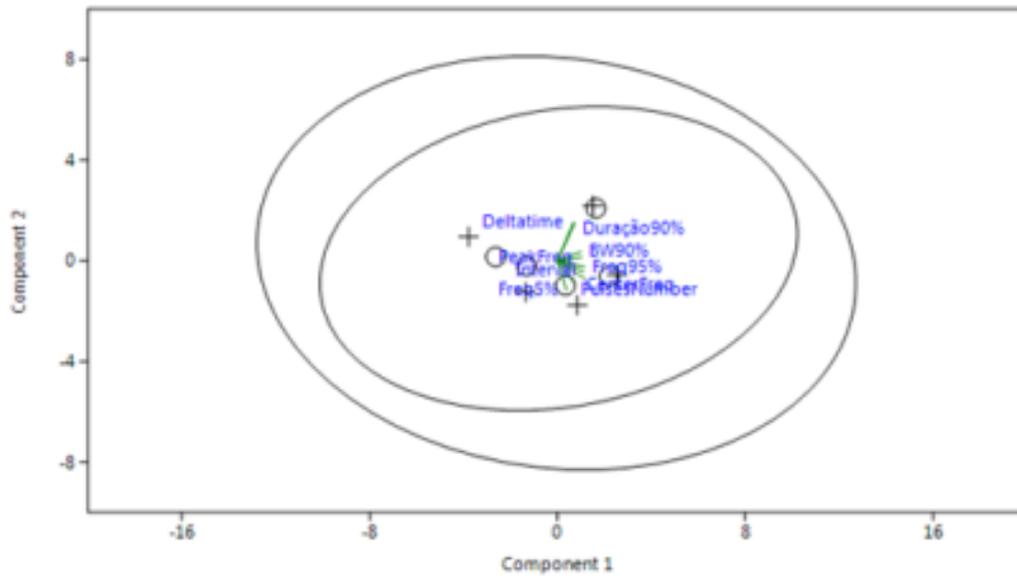


Fig. 4: Biplot graph of the Principal Component Analysis with the axes 1 and 2 presenting the variation of biacoustic parameters recorded of the advertisement call type B of two males (31 and 36) of *Hypsiboas prasinus* recorded in the same night(02/27/13). Crosses: male 31, White circles: male 36. The ellipses include 95% of the values of each individual.

Material Suplementar

Table1 (Data S1). Correlation of the bioacoustic dependent variables in relation to the corporal (body length from face to SVLand body mass) and climatic: temperature and air humidity. Bioacoustics properties: CF: Center frequency; D90%: 90% of duration; DT: Delta time; PF: Peak frequency (dominant frequency); BW90%: 90% of bandwidth; F5%: 5% of frequency; F95%: 95% of frequency; IN: note interval.

Bioacoustic properties / Spp.	Temperature	SLV	Biomass	Humidity
<i>A. arapapa</i>				
CF	r=-0.4783 p=0.0520	r=-0.3936 p=0.1637	r=-0.1428 p=0.6262	r=0.0186 p=0.9437
D90%	rs=0.2622 p=0.3092	rs=0.1171 p=0.6901	rs=0.1051 p=0.7207	rs=0.2665 p=0.3011
DT	r=0.4895* p=0.0461*	r=0.1250 p=0.6702	r=-0.0256 p=0.9309	r=-0.1570 p=0.5474
PF	r=0.5391* p=0.0255*	r=-0.4771 p=0.0845	r=-0.2457 p=0.3972	r=-0.0711 p=0.7863
BW90%	r=-0.0331 p=0.8997	r=-0.2439 p=0.4008	r=-0.0527 p=0.8581	r=0.0711 p=0.7688
F5%	r=-0.0567 p=0.8290	r=-0.4883 p=0.0764	r=-0.2706 p=0.3494	r=0.3307 p=0.1947
F95%	r=0.0688 p=0.7931	r=-0.4551 p=0.1019	r=-0.1947 p=0.5047	r=0.0482 p=0.8541
IN	rs=0.6527 p=0.0566	rs=0.5500 p=0.1249	rs=0.7500* p=0.0199	rs=0.1333 p=0.7324
<i>H. prasinus</i>				
(Call A)				
CF	rs=0.1581 p=0.7995	rs=0.4000 p=0.5046	rs=0.2052 p=0.7406	rs=0.1026 p=0.8696
D90%	rs=0.3162 p=0.6042	r=0.0172 p=0.9781	r=-0.0826 p=0.8950	r=-0.4928 p=0.3990
DT	rs=0.3162 p=0.6042	r=-0.3186 p=0.6013	r=-0.4705 p=0.4238	r=-0.2052 p=0.7406
PF	rs=0.4743	r=0.5580	r=-0.0513	r=-0.3278

	p=0.4195	p=0.3283	p=0.9347	p=0.5902
BW90%	rs=0.4743	r=0.4540	r=-0.2017	r=-0.3780
	p=0.4195	p=0.4424	p=0.7449	p=0.5304
F5%	rs=0.1581	r=-0.4255	r=-0.1693	r=0.3426
	p=0.7995	p=0.4751	p=0.7855	p=0.5724
F95%	rs=0.0000	r=0.1807	r=-0.7044	r=-0.1487
	p=ns*	p=0.7712	p=0.1841	p=0.8114
<i>H.prasinus</i>				
(Call B)				
CF	rs=0.3078	rs=0.3078	rs=0.6000	rs=0.3000
	p=0.6144	p=0.6144	p=0.2847	p=0.6238
D90%	r=0.8517	r=0.5162	r=0.7954	r=-0.6395
	p=0.0670	p=0.3732	p=0.1075	p=0.2452
DT	r=0.716	r=0.2523	r=0.8570	r=-0.3680
	p=0.1736	p=0.6822	p=0.0635	p=0.5423
PF	r=0.1890	r=-0.2893	r=0.6601	r=0.0553
	p=0.7608	p=0.6369	p=0.2253	p=0.9296
BW90%	r=0.4969	r=0.0208	r=0.7875	r=0.0920
	p=0.3943	p=0.9736	p=0.1137	p=0.8831
F5%	r=0.0558	r=0.5849	r=0.2735	r=0.3515
	p=0.9290	p=0.3002	p=0.6561	p=0.5618
F95%	r=-0.8413	r=0.6001	r=-0.9416*	r=0.5247
	p=0.0740	p=0.2846	p=0.0168*	p=0.3640
<i>H.prasinus</i>				
(Call C)				
CF	rs=0.8000	rs=0.8000	rs=0.6325	rs=0.6325
	p=0.1999	p=0.1999	p=0.3675	p=0.3675
D90%	rs=0.8000	rs=0.8000	rs=0.9487	rs=1.0000*
	p=0.1999	p=0.1999	p=0.0513	p<0.0001*
DT	rs=0.8000	rs=0.8000	rs=0.7379	rs=0.6000
	p=0.1999	p=0.1999	p=0.2621	p=0.4000
PF	rs=0.4000	rs=0.4000	rs=0.1054	rs=0.2000
	p=0.6000	p=0.6000	p=0.8946	p=0.8000
BW90%	rs=1.0000	rs=1.0000	rs=0.9487	rs=0.8000
	p<0.0001	p<0.0001	p=0.0513	p=0.1999
F5%	p>0.0500	p>0.0500	rs=0.9487	rs=0.8000

			p=0.0513	p=0.1999
F95%	rs=0.2000	rs=0.2000	rs=0.1054	rs=0.4000
	p=0.8000	p=0.8000	p=0.8946	p=0.6000
<hr/>				
<i>H. faber</i>				
CF	rs=0.8000	rs=0.8000	rs=0.6325	rs=0.6325
	p=0.1999	p=0.1999	p=0.3675	p=0.3675
D90%	rs=0.8000	rs=0.8000	rs=0.9487	rs=1.0000*
	p=0.1999	p=0.1999	p=0.0513	p<0.0001*
DT	rs=0.8000	rs=0.8000	rs=0.7379	rs=0.6000
	p=0.1999	p=0.1999	p=0.2621	p=0.4000
PF	rs=0.4000	rs=0.4000	rs=0.1054	rs=0.2000
	p=0.6000	p=0.6000	p=0.8946	p=0.8000
BW90%	rs=1.0000*	rs=1.0000*	rs=0.9487	rs=0.8000
	p<0.0001*	p<0.0001*	p=0.0513	p=0.1999
F5%	p>0.0500	p>0.0500	rs=0.9487	rs=0.8000
			p=0.0513	p=0.1999
F95%	rs=0.2000	rs=0.2000	rs=0.1054	rs=0.4000
	p=0.8000	p=0.8000	p=0.8946	p=0.6000
IN	rs=0.1784	rs=0.0154	rs=0.3182	rs=0.0089
	p=0.5417	p=0.9584	p=0.2674	p=0.9759

*

Bold: Statistically significant values. * ns: no significant value.

Table 2 (Data S2). Variation coefficient analysis in advertisement call. Spp: Species analyzed (*Aparasphenodon arapapa*, *Hypsiboas prasinus* and *Hypsiboas faber*); CV_a: Among-individual Variation; CV_w: Within-individual variation; CV_a/CV_w: Relation CV_a/CV_w and values higher than 1 allows us to conclude that it is possible to identify one individual among other; C: Classification (S- Static, I- Intermediate, D- Dynamic).

Bioacoustic properties / Spp.	CVa	C	CVw Ind.102	C	CVa/ CVw	Cvw Ind.112	C	CVa/ CVw	Cvw Ind.142	C	CVa/ CVw
A. arapapa											
CF	19.1	I	8.1	I	2.3	8.9	I	2.1	10.8	I	1.8
D90%	15.9	I	21.7	D	0.7	11.1	I	1.4	13.1	D	1.2
DT	12.6	I	16.8	D	0.7	15.7	D	0.8	11.0	I	1.1
PF	24.6	D	12.0	I	2.0	9.4	I	2.6	19.4	D	1.3
BW90%	28.6	D	14.6	D	1.9	12.9	D	2.2	20.0	D	1.4
F5%	13.8	I	19.7	D	0.7	17.9	D	0.8	13.3	D	1.0
F95%	16.3	I	7.6	I	2.1	9.1	I	1.8	8.7	I	1.9
IN	159.1	D	78.2	D	2.0	120.9	D	1.3	61.7	D	2.6
H. prasinus (Call B)											
	CVa	C	CVw Ind. 31	C	CVa/ CVw						
CF	26.3	D	25.7	D	1.2	-	-	-	-	-	-
D90%	119.0	D	120.7	D	0.9	-	-	-	-	-	-
DT	113.3	D	116.0	D	0.9	-	-	-	-	-	-
PF	13.6	I	5.7	I	2.4	-	-	-	-	-	-
BW90%	22.5	D	24.2	D	0.9	-	-	-	-	-	-
F5%	12.6	I	15.2	D	0.8	-	-	-	-	-	-
F95%	5.0	S	3.6	S	1.4	-	-	-	-	-	-
IN	37.4	D	34.9	D	2,5	-	-	-	-	-	-
PN	40.9	D	42.3	D	0.9	-	-	-	-	-	-
H. faber (Study site: Guaxupé)											
	CVa	C	CVw Ind. 2	C	CVa/ CVw	CVw Ind. 10	C	CVa/ CVw			
D90%	16.8	I	14.3	D	1.2	12.7	D	1.3	-	-	-
DT	13.6	I	6.1	I	2.2	10.2	I	1.3	-	-	-
F95%	9.1	S	3.9	S	2.3	6.0	I	1.5	-	-	-
CN	36.3	D	45.9	D	0.8	28.8	D	1.3	-	-	-
PN	50.7	D	49.5	D	1.0	58.8	D	0.9	-	-	-
BN	12.6	I	4.7	S	2.7	8.5	I	1.5	-	-	-
FN	10.6	I	11.9	I	0.9	3.7	S	2.9	-	-	-
IN	167.6	D	25.4	D	6.6	60.5	D	2.8	-	-	-
H. faber (Study site: Monte Belo)											
	CVa	C	CVw Ind. 2	C	CVa/ CVw						
D90%	10.1	I	10.6	I	0.9	-	-	-	-	-	-
DT	12.9	I	14.2	D	0.9	-	-	-	-	-	-
F95%	5.9	S	10.8	I	0.5	-	-	-	-	-	-
CN	7.9	S	15.4	D	0.5	-	-	-	-	-	-
PN	9.8	S	26.2	D	0.4	-	-	-	-	-	-
BN	8.3	S	15.0	D	0.5	-	-	-	-	-	-
FN	3.9	S	0.9	S	3.5	-	-	-	-	-	-
IN	38.4	D	65.7	D	0.6	-	-	-	-	-	-

