

Bioacústica e filogenia de três grupos de *Physalaemus*  
Fitzinger (1826) (Anura, Leptodactylidae)

Rodrigo Augusto Silva

DOUTORADO



PÓS GRADUAÇÃO  
EM BIOLOGIA ANIMAL

Biologia  
Estrutural

Rodrigo Augusto Silva

Bioacústica e filogenia de três grupos de *Physalaemus*  
Fitzinger (1826) (Anura, Leptodactylidae)

São José do Rio Preto  
2013

Rodrigo Augusto Silva

Bioacústica e filogenia de três grupos de *Physalaemus*  
Fitzinger (1826) (Anura, Leptodactylidae)

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração - Ecologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Orientador: Prof. Dr. Itamar Alves Martins

São José do Rio Preto  
2013

Silva, Rodrigo Augusto

Bioacústica e filogenia de três grupos de *Physalaemus* Fitzinger (1826) (Anura; Leptodactylidae)/ Rodrigo Augusto Silva. - São José do Rio Preto: [s.n.], 2013.

138 f. :18 il. ; 30 cm.

Orientador: Itamar Alves Martins

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

1. Filogenia. 2. Caracteres comportamentais. 3. Parâmetros espectrais e temporais. I. Martins, Itamar Alves. II. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.

CDU – 576.1

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE  
Campus de São José do Rio Preto - UNESP

Rodrigo Augusto Silva

Bioacústica e filogenia de três grupos de *Physalaemus*  
Fitzinger (1826) (Anura, Leptodactylidae)

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biologia Animal, junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Animal, Área de Concentração - Ecologia, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Itamar Alves Martins  
UNITAU - Taubaté  
Orientador

Prof. Dr. Fernando Rodrigues da Silva  
UFSCAR - Sorocaba

Prof. Dr. Rogério Pereira Bastos  
UFG - Goiânia

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Denise de Cerqueira Rossa-Feres  
UNESP – São José do Rio Preto

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Cynthia Peralta de Almeida Prado  
UNESP - Jaboticabal

São José do Rio Preto  
14 de março de 2013

## AGRADECIMENTOS

Agradeço todo apoio, incentivo e paciência da minha família. Aos meus pais que disponibilizaram, sobretudo, genes suficientemente adaptados para sobreviver “nesse ambiente”, além da boa educação. À minha mulher e filhos por apoiar, entender e acreditar no sonho alheio. Ao meu orientador, Dr. Itamar, desde sempre um amigo e a pessoa como quem realizei minha primeira coleta. À Dra. Denise, pela pessoa maravilhosa que é. Sempre generosa com os outros e profissional que inspira os que estão ao seu redor. Aos amigos de laboratório (todos, incluindo o Carlão) pela agradável convivência e pela ajuda em diversas situações. Ao Cursinho Alternativo por valorizar a educação. Aos meus alunos, cobaias e incentivadores. À UNESP, Departamento de Zoologia e Botânica e ao laboratório de Ecologia, são vinte anos de hospedagem; bem como à Pós-Graduação, coordenadores, professores e alunos, pelo apoio e pela estrutura para realizar este trabalho. A CAPES pela bolsa de doutorado.

“Os sapinhos tão cantando

Tiranas de bem querer...”

Elomar

## ÍNDICE

Resumo	1
Abstract	4
Introdução geral	7
Referências	14
Capítulo 1 - Análises Bioacústicas em espécies do grupo <i>Physalaemus cuvieri</i> , Fitzinger, 1826	22
Resumo	24
Abstract	26
Introdução	27
Metodologia	30
Resultados	32
Discussão	34
Conclusão	39
Agradecimentos	39
Referências	40
Tabelas	49
Figuras	53
Capítulo 2 - A influência do habitat nos parâmetros bioacústicos de anuros do gênero <i>Physalaemus</i> (Anura, Leptodactylidae)	58
Resumo	60
Abstract	62
Introdução	63
Metodologia	65
Resultados	68

Discussão	73
Conclusão	77
Agradecimento	78
Referências	78
Tabelas	86
Figuras	89
Capítulo 3 - Evolução dos parâmetros bioacústicos do canto de anúncio do gênero <i>Physalaemus</i> (Anura; Leptodactylidae)	97
Resumo	99
Abstract	100
Introdução	101
Metodologia	104
Resultados	107
Discussão	112
Conclusões	115
Agradecimento	116
Referências	116
Tabelas	126
Figuras	128
Considerações finais	131



## RESUMO

Os sinais acústicos dos anuros são excelentes padrões de comportamento para estudos comparativos. Atualmente, as hipóteses filogenéticas que explicam a evolução do canto em anuros se dividem. Uma frente sugere que espécies próximas filogeneticamente tendem a ter o canto mais similar do que o esperado ao acaso, predizendo que espécies mais próximas filogeneticamente tendem a ter o canto mais similar. Outro ramo indica que diferenças nas características do hábitat afetam as propriedades acústicas do canto minimizando as interferências ambientais. Essas forças, assim, podem atuar em oposição. O objetivo geral deste estudo foi analisar as influências filogenéticas e ambientais nos parâmetros acústicos do canto de anúncio de 28 espécies de anuros do gênero *Physalaemus*. No capítulo 1, Os parâmetros bioacústicos espectrais e temporais dos cantos são comparados qualitativa e quantitativamente para avaliar se influenciam a segregação dos cantos e para determinar o grau de similaridade entre os cantos dessas espécies crípticas no grupo *P. cuvieri*. No capítulo 2, discutimos a relação entre os parâmetros acústicos e o tipo de hábitat ocupado pelas espécies e, a similaridade entre os cantos de anúncio de 28 espécies do gênero *Physalaemus* que ocupam áreas abertas e ambiente de mata. E, no capítulo 3, Nosso objetivo foi comparar e sinalizar as transformações nos parâmetros espectrais e temporais do canto de anúncio para três táxons de espécies do gênero *Physalaemus* através de árvores filogenéticas. A similaridade dos parâmetros bioacústicos dos cantos não é relacionada com a distribuição geográfica das espécies. As espécies alopátricas demonstram maior similaridade do canto do que as espécies simpátricas. Nas espécies simpátricas analisadas, *P. cuvieri*, *P. ephippifer* e *P. fischeri*, verifica-se sobreposição de parâmetros

espectrais, já em *P. cuvieri*, *P. kroyeri* e *P. centralis*, ocorre sobreposição dos parâmetros temporais. Os cantos de anúncio apresentaram mais diferenças entre os grupos taxonômicos de ambiente de mata. Os parâmetros bioacústicos do grupo *P. cuvieri*, espécies de área aberta, não apresentaram diferenças significativas das espécies de ambiente de mata. Apesar disso, todos os parâmetros bioacústicos apresentaram diferenças significativas entre os grupos taxonômicos. A segregação das espécies em seus respectivos grupos taxonômicos não foi total. Mas, de cerca de 60% das espécies são agrupadas juntas à espécies do seu grupo taxonômico. Além disso, os pares de espécies que tiveram cantos similares pertenciam ao mesmo grupo taxonômico, sendo apenas *P. kroyeri* e *P. aguirrei* classificados em grupos distintos. Esses dados indicam que a sobreposição completa dos parâmetros do canto não ocorre e, caso espécies simpátricas ocupem o mesmo espaço acústico, a segregação dos cantos se dá pelos parâmetros temporais. Apesar da alta semelhança morfológica dessas espécies congênicas, amplamente citadas na literatura como crípticas, os cantos de anúncio das espécies analisadas diferem, apresentando segregação tanto nos parâmetros espectrais quanto nos temporais. O uso de parâmetros acústicos como unidades é conveniente para a comparação de sinais acústicos em anuros, mas esses parâmetros podem evoluir em caminhos distintos como parece o caso das espécies do gênero *Physalaemus*. Mas, alguns parâmetros do canto estereotipados, como as notas harmônicas, tendem a ser conservativas ou mais similares entre espécies próximas, auxiliando a interpretação dos padrões evolutivos em grupos taxonômicos. Os parâmetros espectrais do canto evoluem similarmente nos três grupos taxonômicos estudados, com gradual decréscimo nas frequências dos cantos. Esses parâmetros espectrais podem estar mais relacionados a caracteres morfológicos que influenciam diretamente o canto, tendo também um forte sinal filogenético, como o tamanho corporal e a estrutura da laringe. Com isso, esses

parâmetros do canto tendem a ser conservativos ou mais similares entre espécies de *Physalaemus*. Mas, nas espécies de área aberta do grupo *P. cuvieri*, os parâmetros temporais como duração e taxa de repetição da nota mostraram divergência. Uma possível explicação para o efeito do ambiente nesses parâmetros bioacústicos do grupo *P. cuvieri* é que esses cantos podem necessitar percorrer longas distâncias em área aberta em relação às características ambientais que utilizam comunicação a curtas distâncias. Entretanto, são necessários mais estudos para determinar se outros fatores estão influenciando a evolução do canto de anúncio. Verificamos também que os parâmetros bioacústicos utilizados foram satisfatórios para demonstrar o padrão de evolução em cada clado. Porém, foram insuficientes para demonstrar algum padrão evolutivo quando os cladogramas foram agrupados. Todos os parâmetros espectrais apresentaram-se mais conservadores tendo forte influência filogenética, bem como parâmetros temporais das espécies que ocorrem em mata (grupos *P. signifer* e *P. olfersii*); enquanto que parâmetros temporais como duração e taxa de repetição da nota, de espécies de área aberta, mostraram valores mais flexíveis influenciado por fatores ambientais ou condições de comportamento social. Outros estudos de padrões dos sinais bioacústicos em grupos taxonomicamente próximos, mostrando divergências em sinais de comunicação, podem nos dizer quais os parâmetros bioacústicos são mais susceptíveis de alteração evolutiva; podendo fornecer um contexto para futuras pesquisas. Saber quais padrões realmente caracteriza a evolução dos sinais de comunicação deve nos guiar para fazer as perguntas corretas sobre os processos que as produziram.

Palavras-chave: canto de anúncio, espécies crípticas, influência do habitat, padrões de evolução do canto, parâmetros acústicos, segregação acústica

## ABSTRACT

The acoustic signals of frogs are excellent standards of behavior for comparative studies. Currently, the phylogenetic hypotheses that explain the evolution of singing in Anurans are divided. A front suggests that phylogenetically close species tend to have the calls more similar than expected by chance, predicting that phylogenetically closest species tend to have the most similar. Another branch indicates that differences in habitat characteristics affect the acoustic properties of the minimizing environmental interferences. These forces, therefore, can act in opposition. The overall objective of this study was to analyze the phylogenetic and environmental influences in the acoustic parameters of the advertisement call of 28 species of Anurans belonging to the genus *Physalaemus*. In Chapter 1, the spectral and temporal bioacoustics parameters of the calls are compared qualitatively and quantitatively to assess whether they influence the segregation of calls and to determine the degree of similarity between the calls of these cryptic species in *P. cuvieri* group. In Chapter 2, we discussed the relationship between the acoustic parameters and the type of Habitat occupied by the species and, the similarity between the advertisement call of 28 species of the *Physalaemus* genus occupying open areas and forest environment. And in Chapter 3, our objective was to compare and flag the transformations in the spectral and temporal parameters of the advertisement call for the three taxa of the *Physalaemus* genus through phylogenetic trees. The similarity of bioacoustics parameters of the calls is not related to the geographic distribution of the species. Allopatric species show greater similarity of corner than the sympatric species. In sympatric species analyzed, *P. cuvieri*, *P.*

*ephippifer* and *P. fischeri*, there is overlap of spectral parameters, as in *P. cuvieri*, *P. kroyeri* and *P. centralis*; there is overlap of the timescale. The announcement had more corners differences among the taxonomic groups of forest environment. The bioacoustics parameters of the *P. cuvieri* group, open area species, showed no significant differences of species of forest environment. The parameters bioacústicos *P. cuvieri* group, open area species, showed no significant differences of species of forest environment. Nevertheless, all bioacoustics parameters showed significant differences between taxonomic groups. Segregation of species in their respective taxonomic groups was not total. But, about 60% of the species are grouped together to your species taxonomic group. In addition, the pairs of species that had similar calls belong to the same taxonomic group, being only *P. kroyeri* and *P. aguirrei* classified into distinct groups. These data indicate that the complete overlay of the parameters of the call does not occur and, if sympatric species occupy the same space, the segregation of the calls is by temporal parameters. Despite the morphological similarity of congeneric species high, widely cited in the literature as cryptic, the announcement of the species analyzed calls differ, showing segregation both in temporal and spectral parameters. The use of acoustic parameters as is convenient for the comparison of acoustic signals in frogs, but these parameters can evolve in different ways as it seems the case for species of the *Physalaemus* genus. But, some parameters of the stereotyped, as the harmonic notes, tend to be conservative or more similar between species, aiding the interpretation of evolutionary patterns in taxonomic groups. The spectral parameters of the evolve similarly in three taxonomic groups studied, with gradual decrease in the frequencies of the calls. These spectral parameters may be more related to morphological characters that directly influence the call, having also a strong phylogenetic signal, such as body size and structure of the larynx. With this, these calls parameters tend to be conservative

or more similar between species of *Physalaemus*. But, in the open area of the species *P. cuvieri* group, temporal parameters as duration and repetition rate of the note showed disagreement. A possible explanation for the effect of the environment on these bioacoustics parameters of *P. cuvieri* group is that these songs may require walking long distances in open area in relation to environmental characteristics using short-distance communication. However, more studies are needed to determine if other factors are influencing the evolution of the advertisement call. All spectral parameters were more conservative with a strong phylogenetic influence, as well as the temporal parameters of the species that occur in forest (*P. signifer* and *P. olfersii*); while the temporal parameters as duration and repetition rate of the note, open area species, showed more flexible values influenced by environmental factors or conditions of social behavior. Other studies of patterns of signs bioacústicos into groups, showing differences in taxonomically communication signals, can tell us what the bioacoustics parameters are more likely to evolutionary change; and can provide a context for future research. Know which really characterizes the evolution patterns of communication signals must guide us to make correct questions about the processes that produced.

Keywords: advertisement call, cryptic species, habitat influence, patterns of evolution call, acoustic, acoustic segregation

## INTRODUÇÃO GERAL

Muitos animais dependem de comunicação acústica para o sucesso reprodutivo e sobrevivência. Os estudos de laboratório e de campo mostraram a importância dos sinais de comunicação para a seleção natural e, mais amplamente, para a evolução e diversificação de táxons (Whitman, 1899; Lorenz, 1941; Tinbergen, 1959; Huxley, 1966, Brooks & McLennan, 1991; Cocroft & Ryan, 1995, Gerhardt & Huber, 2002). Nesse contexto, os sinais bioacústicos dos anuros constituem bons padrões de comportamento para estudos comparativos (Wells, 2007).

Atualmente, as hipóteses filogenéticas que explicam a evolução do canto em anuros se dividem. Uma frente sugere que espécies próximas filogeneticamente tendem a ter o canto mais similar do que o esperado ao acaso, independente do efeito do ambiente e das interações intra e interespecíficas, predizendo que espécies mais próximas filogeneticamente tendem a ter o canto mais similar (Wells, 2007). Outro ramo indica que diferenças nas características do hábitat afetam as propriedades acústicas do canto, promovendo variações intra e interespecíficas que otimizam a emissão do sinal acústico, minimizando as interferências ambientais (Bosch & De La Riva, 2004). Essas forças podem atuar em oposição, assim, sendo o canto derivado da evolução dos sinais conspícuos para atração de casais e dependente do ambiente ocupado (Ryan, 1985).

Os sinais acústicos dos anuros são excelentes padrões de comportamento para estudos comparativos. O canto é o principal componente do reconhecimento das espécies e escolha do parceiro. O comportamento do canto e o sistema sensorial desenvolvido na percepção do canto foram extensivamente estudados, tornando-se um

dos melhores modelos de sistema de compreensão da comunicação animal (Fritzsche *et al.*, 1988), assim como a estrutura do sistema auditivo e sua relação com a característica do canto (Capranica, 1965; Fuzessery, 1988; Walkowiak, 1988; Zakon & Wilczynski, 1988). O canto é um sinal acústico repetitivo e relativamente curto cujas características podem ser quantificadas usando-se métodos padronizados de análise sonora. As medições são objetivas e repetíveis, eliminando problemas de diferença inter observador e viés que podem complicar estudos comparativos de comportamento (Cocroft & Ryan, 1995).

Muitos parâmetros do canto, como a modulação da frequência e o harmônico tendem a ser conservativos ou mais similares entre espécies próximas (Cocroft & Ryan, 1995). Os parâmetros espectrais do canto possuem um forte sinal filogenético por estarem diretamente relacionados com o reconhecimento específico, assim como parâmetros temporais devem ser mais plásticos, refletindo as condições ambientais (Robillard *et al.*, 2006). Além disso, o uso de pulso e do canto como unidades para a comparação de sinais acústicos em anuros é conveniente, mas as unidades mecânicas (nota) e acústicas (pulso e canto) podem evoluir em caminhos distintos, principalmente em espécies fortemente relacionadas (Robillard *et al.*, 2006). A estrutura do canto pode variar desde uma nota simples a um repertório sucessivo de notas (McLister *et al.*, 1995; McLister, 2001; Gridi-Papp, 2003). E, notas podem ser moduladas ou unimodais, variando na amplitude, frequência ou ambos (Martin, 1971).

Assim, as características acústicas podem ser usadas para determinar homologia na vocalização dos anuros, que podem auxiliar as análises filogenéticas (Robillard *et al.*, 2006). A identificação dos padrões da evolução comportamental mostra uma relação entre o estudo comportamental e a sistemática (Whitman, 1899; Lorenz, 1941; Tinbergen, 1959; Huxley, 1966), sendo o comportamento uma ferramenta básica para



uma tradição contínua de estudos comparativos de evolução (Milne & Milne, 1939; Lack, 1947; Spieth, 1947; Johnsgard, 1961; Evans, 1962; Van Tets, 1965; Crane, 1966; Otte, 1970). O uso de comparações entre espécies próximas para analisar questões sobre a evolução do comportamento, especialmente o comportamento de exibição, preocupação da etologia tradicional (Daanje, 1950; Kessel, 1955; Hinde & Tinbergen, 1959; Blest, 1961; Cullen, 1966; Huxley, 1966), só se concretizou com o desenvolvimento de uma análise filogenética e métodos comparativos rigorosos (Hennig, 1966; Wiley, 1981; Harvey & Pagel, 1991) tornando essa abordagem muito mais poderosa e pedindo um novo exame das questões da etologia clássica sobre a evolução comportamental. Assim, a inclusão de inferência filogenética é um ótimo recurso que ajuda a estipular a origem e a direção das modificações comportamentais (Cocroft & Ryan, 1995). Entre os ecologistas aumentou o interesse em estudos comportamentais, realizando estudos comparativos dentro de um contexto explicitamente filogenético (Ryan, 1986; Brooks & McLennan, 1991; Harvey & Pagel, 1991).

As características evolutivas também são empregadas para melhor entender os muitos padrões do uso e da partilha de recursos (*e. g.* Brooks & McLennan, 1993; Cadle & Greene, 1993; Martins & Oliveira, 1999). Segundo Brooks & McLennan (1991), essa associação entre a ecologia e a história evolutiva das espécies (pela aplicação da metodologia filogenética) permite a interpretação de processos que modelam as populações. Estudos de uso e partilha acústica em espécies congênicas (Martins & Jim, 2003; 2004; Martins *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2008) mostram o grau de sobreposição é variável sendo a sobreposição total rara. Heyer e colaboradores (1990) sugerem que há um padrão nos tipos de mudanças ecológicas que ocorreram entre espécies de morfologia semelhante e que resultaram em partilha de recursos em

comunidades de anuros. Em anuros de área aberta com alta sobreposição nos critérios espectrais e temporais do canto de anúncio, há uma convergência ambiental destes caracteres (Silva *et al.*, 2008).

O ambiente também parece exercer uma forte pressão no canto emitido por diferentes espécies (e.g. Zimmermann, 1983; Wiley, 1991; Slabbekoon & Smith, 2002). Interferências do ambiente como atenuação, degradação e mascaramento dos sinais por ruídos ambientais podem influenciar na evolução da estrutura do canto (Morton, 1975; Waser & Brown, 1986; Wells, 2007; Bradbury & Vehrencamp, 2011), assim como a temperatura, umidade e o vento (Wells & Schwartz, 1982). O ambiente pode causar uma excessiva atenuação na transmissão do canto (por exemplo, bloqueio de sons pela vegetação) ou causar mascaramento por causa dos sons ambientais abióticos (cachoeiras, chuva, etc.) que ocupam as mesmo bandas de frequência com o sinal.

Morton (1975) afirma que as frequências dominantes e outras propriedades do canto de longa distância são otimizadas para aqueles valores que são menos atenuados pelo ambiente físico. Habitats diferentes terão bandas de frequências ideais diferentes. Essa necessidade não se limita a sons no ar: baleias machos produzem cantos de baixa frequência porque frequências baixas carregam mais no oceano aberto, e baleias-comuns tendem a espalhar-se, em vez de agregados. (Croll & Tershy, 2002). Morton (1975) foi o pioneiro do método de leitura-gravação, onde um sinal de som gravado é emitido de alto-falantes em diversos tipos de habitats em diferentes condições e captado por microfones configurando o alcance de propagação. O grau de atenuação varia de acordo com o espectro de frequência do som medido, e as frequências que a atenuação é menor são consideradas as frequências ideais para transmissão. Assim, esses sons podem ser comparados com as frequências dominantes de cantos reais de animais em seus habitats. Como alternativa as gravações desses animais e de animais provenientes

de outros habitats podem ser produzidas, com a expectativa que cantos que são produzidas em seus habitats naturais correspondentes, devem experimentar a menor distorção e atenuação, porque a estrutura do canto é de alguma forma adaptada ao habitat (Marten & Marler, 1977). No entanto, o grau e o padrão da atenuação do som nem sempre são constantes. Em um habitat, o grau ao qual uma determinada frequência é atenuada pode variar entre os cantos (Ryan, 1985).

Assim, o canto de espécies de floresta sofre maior atenuação e degradação, principalmente os cantos com frequências altas devido à vegetação densa (Wiley & Richards, 1978). Por sua vez, o canto das espécies de área aberta sofre menor atenuação (Ryan & Brenowitz, 1985; Kime *et al.*, 2000), bem como os cantos emitidos acima do solo sofrem menor degradação que os emitidos no nível do solo (Kime *et al.*, 2000). As espécies que ocorrem em diferentes ambientes tendem a possuir diferenças no canto como uma adaptação a este, a fim de melhorar a qualidade de transmissão do sinal e também atuar como filtros ambientais (Morton, 1975; Wiley, 1991; Bosch & De La Riva, 2004; Wells, 2007). Cada espécie procura adequar a comunicação sonora funcionalmente às pressões adaptativas extremamente fortes fazendo com que algumas regras e tendência apareçam transgredindo as relações filogenéticas (Vielliard, 1990). Cocroft & Ryan (1995) após observar padrões conservativos em aspectos morfológicos acústicos em uma família de hilídeos sugerem que novos trabalhos ampliem esforços na identificação da origem e direção das importantes mudanças no comportamento acústico.

O canto de anúncio é a vocalização mais frequentemente emitida pelos machos (Wells, 1977), apresentando adaptações que promovem atenuação das interferências intra e interespecíficas no período reprodutivo (Wells, 1980; 1988; Schwartz & Wells, 1983; Bastos & Haddad, 1995; Given, 1990; Grafe, 1996; Martins *et al.*, 2006; Silva *et*

al., 2008). Zimmermann & Bogart (1984) demonstraram diferenças na estrutura do canto entre espécies que vocalizam em diferentes formações ambientais. Mudanças nos sinais de amplitude e fidelidade dos cantos emitidos podem diminuir a eficiência do sinal (Kime *et al.*, 2000). Ruídos ambientais, como a correnteza de um riacho ou uma cachoeira, podem apresentar frequências entre 50 a 4000 Hz (Feng *et al.*, 2002; Narins *et al.*, 2004) e anuros sob essas condições tendem a produzir altas frequências no canto estendendo até a amplitudes ultra-sônicas (Narins *et al.*, 2004). Segundo Feng & Schul (2007) a comunicação acústica dos anuros é suscetível à degradação durante a transmissão sendo que algumas estruturas do canto não ultrapassam determinadas barreiras físicas. A degradação do som é menor em indivíduos que vocalizam acima do solo em comparação com indivíduos que vocalizam apoiados no solo e, menor em habitats abertos, comparados com habitats de floresta (Kime *et al.*, 2000). Entretanto, Kathryn & Ryan (2004) demonstraram que machos podem desenvolver traços explorando aqueles já existentes e, a evolução da complexidade do canto está relacionada essencialmente a morfologia dos órgãos relacionados, portanto, de origem genética.

O gênero *Physalaemus* foi descrito por Fitzinger (1826) para uma única espécie, *P. cuvieri*, do Brasil, e foi caracterizado simplesmente pela presença de dedos finos. Atualmente, o gênero *Physalaemus* apresenta uma distribuição geográfica entre o sudeste do México até o Nordeste da Argentina (Cruz & Pimenta, 2004; Frost, 2012). Lynch (1970) reconheceu quatro grupos de espécies baseados nas variações de caracteres morfológicos: grupos *biligonigerus*, *pustulosus*, *signifer* e *cuvieri*. Heyer (1975) discutiu as relações filogenéticas entre os gêneros de Leptodactylinae e considerou o gênero *Physalaemus* monofilético e como grupo irmão de *Pleurodema* Tschudi, 1838 e *Pseudopaludicola* Miranda-Ribeiro, 1926. Cannatella & Duellman

(1984) propõe um grupo monofilético para *P. pustulosus*, incluindo quatro espécies e definidas por quatro características: presença de glândulas paratóides; glândulas de flanco elíptico; pele rugosa, pustulosa; e fino processo de dentes vomerianos. Cannatella e colaboradores (1998) usando as características do canto de anúncio, morfologia, moleculares para estimar a filogenia das espécies do grupo *P. pustulosus*. Tárano & Ryan (2002) apresentaram uma primeira análise filogenética dos *Physalaemus* e sugeriu que o gênero consistia de dois grupos monofiléticos, o grupo de espécies de *P. pustulosus* e todas as outras espécies.

Estudos recentes de sistemática realizados por Nascimento e colaboradores (2005) resultaram em uma revisão do gênero *Physalaemus*, baseados em análises morfométricas, morfologia externa, padrões de cores e caracteres osteológicos. São atualmente 45 espécies distribuídas em sete grupos: *cuvieri*, *signifer*, *albifrons*, *deimaticus*, *gracilis*, *henselii* e *olfersii*. Este trabalho também revalidou o gênero *Eupemphix*, contendo apenas *E. nattereri*, as demais espécies anteriormente incluídas na classificação de Lynch (1970) foram reunidas no gênero *Engystomops*.

#### Organização da tese

Esta tese está organizada em três capítulos para satisfazer os objetivos propostos no projeto inicial. Os capítulos estão estruturados em forma de artigos, os quais serão submetidos à publicação:

- No capítulo 1, avaliamos a segregação dos parâmetros bioacústicos e o grau de similaridade dos cantos das espécies de anuros pertencentes ao grupo *P. cuvieri*. Este artigo será submetido ao periódico *Bioacoustics*.

- No capítulo 2, verificamos a influencia do hábitat nos parâmetros bioacústicos das espécies do gênero *Physalaemus* pertencentes a três grupos: *P. signifer*, *P. cuvieri*, e *P. olfersii*. Este artigo será submetido ao periódico *Evolutionary Ecology*.

- No capítulo 3, os padrões de evolução do canto de anúncio de 28 espécies do gênero *Physalaemus* foram analisados através da filogenia comportamental. Este artigo será submetido ao periódico *Cladistics*.

## REFERÊNCIAS

- Bastos, R.F. & Haddad, C.F.B. 1995. Vocalizações e interações acústicas em *H. elegans* durante a atividade reprodutiva (Anura, Hylidae). *Naturalia* 1(3): 1-11.
- Blest, A.D. 1961. The concept of ritualization. In: *Current Problems in Animal Behaviour*. Thorpe, W.H. & Zangwill, O.L. (Eds.). Cambridge, Cambridge University Press: 102-124.
- Bosch, J. & De La Riva, I. 2004. Are frog calls modulated by the environment? An analysis with anuran species from Bolívia. *Can. J. Zool.* (82): 880-888.
- Bradbury, J.W. & Vehrencamp, S.L. 2011. *Principles of animal communication*, 2<sup>nd</sup> edn, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA: 654pp.
- Brooks, D.R. & McLennan, D.A. 1991. *Phylogeny, Ecology and Behaviour: A research program in comparative biology*. Chicago: University of Chicago Press: 434pp.
- Brooks, D.R. & McLennan, D.A. 1993. Historical ecology: examining phylogenetic components of community evolution. In: *Species diversity on ecological communities*. Ricklefs, R.E. & Schluter, D. (Eds.) Chicago: University of Chicago Press: 267-280.

- Cadle, J.E. & Greene, H.W. 1993. Phylogenetic patterns, biogeographic, and the ecological communities. Ricklefs, R.E. & Schluter, D. (Eds.). Chicago: University of Chicago Press: 93-281.
- Cannatella, D.C. & Duellman, W.E. 1984. Leptodactylid frogs of the *Physalaemus pustulosus* group. *Copeia* (4): 902-921.
- Cannatella, D.C. Hills, D.M., Chippindale, P.T. Weigt, L, Rand, A.S. & Ryan, M.J. 1998. Phylogeny of frogs the *Physalaemus pustulosus* species group, with an examination of data incongruence. *Syst. Biol.* 47(2): 311-335.
- Capranica, R.R. 1965. The vocal response of the bullfrog. Cambridge, Massachusetts: MIT Press: 113pp.
- Cocroft, R.B. & Ryan, M.J. 1995. Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs. *Anim. Behav.* (49): 283-303.
- Crane, J. 1966. Combat, display and ritualization in fiddler crabs (Ocypodidae, genus *Uca*). *Phil. Trans. R. Soc. Ser. B* (251): 459-472.
- Croll, D.A. & Tershy, B.R. 2002. Filter feeding. In: Perrin, W.F.; Wursig, B.; Thewissen, J.G.M. (eds.) *Encyclopedia of marine mammals*. Academic Press, San Diego: 428-432.
- Cruz, C.A.G. & Pimenta, B.V.S. 2004. New species of *Physalaemus* Fitzinger, 1826 from Southern Bahia, Brazil (Anura; Leptodactylidae). *J. Herpet.* 38(4): 480-486.
- Cullen, J.M. 1966. Reduction of ambiguity through ritualization. *Phil. Trans. R. Soc. Ser. B* (251): 363-374.
- Daanje, A. 1950. On locomotory movements in birds and the intention movements derived form them. *Behaviour* (3): 49-98.
- Evans, H.E. 1962. The evolution of prey-carrying mechanisms in wasps. *Evolution* (16): 468-483.

- Feng, A.S. & Schlul, J. 2007. Sound processing in real-world environments. In: Hearing and sound communication in amphibians. Narins, P.M., Feng, A.S., Fay, R.R. & Popper, A.N. (Eds.). Springer, USA: 323-350.
- Feng, A.S.; Narins, P.M. & Xu C.H. 2002. Vocal acrobatics in chinese frog, *Amolops tormotus*. *Naturwisseenschaften* (89): 352-356.
- Fritzs, B.; Ryan, M.J.; Wilczynski, W.; Hetherington, T.E. & Walkowiak, W. 1988. The evolution of the amphibian auditory system. New York: John Wiley: 1313pp.
- Frost, D.R. 2012. Amphibian Species of the World: An online reference. V.5.1. Disponível em: <<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>>. American Museum of History, New York, USA. Acesso em 01.08.2011.
- Fuzessery, Y.M. 1988. Frequency tuning in the anuran central auditory system. In: The evolution of the amphibian auditory system. Fritzs, B; Ryan, M.J.; Wilczynski, W.; Hetherington, T.E. & Walkowiak, W. (Eds.). New York, John Wiley: 253-273.
- Gerhardt, H.C. & Huber, F. 2002. Acoustic communication in insects and anurans. The University of Chicago Press, Chicago and London: 531pp.
- Given, M.F. 1990. Spatial distribution and vocal interaction in *Rana clamitans* and *R. virgatipes*. *J. Herpet.* (24): 377-382.
- Grafe, T.U. 1996. The function of call alteration in the African reed frog (*Hyperolius marmoratus*): precise call timing prevents auditory masking. *Behav. Ecol. Sociobiol* (38): 149-158.
- Gridi-Papp, M. 2003. Mechanism, behaviour and evolution of calling in four north american treefrogs. Tese PhD, Universidade do Texas, Austin: 177pp.
- Harvey, P.H. & Pagel, M.D. 1991. The comparative method in evolutionary biology. Oxford: Oxford University Press: 235pp.
- Hennig, W. 1966. Phylogenetic Systematic. University of Illinois Press Urbana 263pp.



- Heyer, W.R. 1975. A preliminary analysis of the intergeneric relationship of the frog family Leptodactylidae. *Smithsonian Contributions to Zoology* (199): 1-40.
- Heyer, W.R.; A.S. Rand; C.A.G. Cruz; O.L. Peixoto & C.E. Nelson. 1990. Frogs of Boracéia. *Arquivos de Zoologia, São Paulo* 31(4): 231-410.
- Hinde, R.A. & Tinbergen, N. 1958. The comparative study of species-specific behaviour. In: *Behaviour and Evolution*. Roe, A. & Simpson, G.G. (Eds.). New Haven, Yale University Press: 251-268.
- Huxley, J. 1966. A discussion on ritualization of behaviour in animals and man: introduction. *Phil. Trans. R. Soc. Ser. B* (251): 249-271.
- Johnsgard, P.A. 1961. The taxonomy of the Anatidae: a behaviour analysis. *Ibis* (103): 71-85.
- Kathryn, E. & Ryan, M. 2004. Population variation of complex advertisement calls in *Physalaemus petersi* comparative laryngeal morphology. *Copeia* (3): 624-631.
- Kessel, E.L. 1955. The mating activities of balloon flies. *Syst. Zool.* (4): 97-104.
- Kime, N.M., Turner, W.R. & Ryan, M.J. 2000. The transmission of advertisement calls in Central American frogs. *Behav. Ecol.* (11): 71-83.
- Lack, D. 1947. *Darwin's finches*. Cambridge: Cambridge University Press: 42pp.
- Lorenz, K.D. 1941. Vergleichende bewegungsstudien an anatinen. *J. ornithol.* 89, Sonderheft: 19-29. In: 1972. *Function and evolution of behaviour: An historical sample from the pens of ethologists* Klopfer, P.H. & Hailman, J.P. (eds.). Reading, Massachusetts, Addison-Wesley: 231-259.
- Lynch, J.D. 1970. Systematic status of the American leptodactylid frog genera *Engystomops*, *Eupemphix* and *Physalaemus*. *Copeia* (3): 488-496.
- Marten, K. & Marler, P. 1977. Sound transmission and its significance for animal vocalization, 1: temperate habitats. *Behav. Ecol. Sociobiol.* (2): 271-290.

- Martin, W.F. 1971. Mechanics of sound production in toads of the genus *Bufo*: passive elements. *J. Exp. Biol.* (204): 69-80.
- Martins, I.A. & Jim, J. 2003. Bioacoustic analysis of advertisement call in *Hyla nana* and *Hyla sanborni* in Botucatu, São Paulo, Brazil. *J. Biol.* (63): 507-516.
- Martins, I.A. & Jim, J. 2004. Advertisement call of *Hyla jimi* and *Hyla elianeae* (Anura, Hylidae) in Botucatu Region, São Paulo, Brazil. *J. Biol.* (64): 645-654.
- Martins, I.A., Almeida, S.C. & Jim, J. 2006. Calling sites and acoustic partitioning in species of the *Hyla nana* and *Hyla rubicundula* group. *Herpetological Journal* (16): 239-247.
- Martins, M. & Oliveira, M.E. 1999. Natural history of snake in forests of the Manaus region, Central Amazônia, Brazil. *Herpetol. Nat. Hist.* (6): 78-150.
- McLister, J.D. 2001. Physical factors affecting the cost and efficiency of sound production in the *Hyla versicolor*. *J. Exp. Biol.* (204): 69-80.
- McLister, J.D.; Stevens, E.D. & Bogart, J.P. 1995. Comparative contractile dynamics of calling and locomotor muscles in three hylid frogs. *J. Exp. Biol.* (198): 1527-1538.
- Milne, M.J. & Milne, L.J. 1939. evolutionary trends in caddis worm case construction. *Ann. Entomol. Soc. Am.* (32): 533-542.
- Morton, E.S. 1975. Ecological sources of selection on avian sounds. *Amer. Natur.* (109): 17-34.
- Narins, P.M., Feng, A.S., Lin, W., Schnitzler, H.U., Denzinger, A., Suthers, R.A. & Xu, C.H. 2004. Old world frog and bird vocalizations prominent ultrasonic harmonics. *J. Acoust. Soc. Am.* (115): 910-913.
- Nascimento, L.B., Caramaschi, U. & Cruz, C.A.G. 2005. Taxonomic review of the species groups of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 with *Eupemphix*

- Steindachner, 1836 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). Arquivos do Museu Nacional 63(2): 297-320.
- Otte, D. 1970. A comparative study of communicative behaviour in grasshoppers. Misc. Publs. Zool. Univ. Mich. (141): 1-168.
- Robillard, T. Höbel, G. & Gerhardt, C. 2006. Evolution of advertisement signals in North American hylid frogs: vocalizations as end-products of calling behaviour. Cladistics (22): 533-545.
- Ryan, M.J. & Brenowitz, E.A. 1985. The role of body size, phylogeny and ambient noise in the evolution of bird song. Amer. Natur. (126): 87-100.
- Ryan, M.J. 1985. The Túngara Frog, a Study in Sexual Selection and Communication. Chicago: University of Chicago Press: 230pp.
- Ryan, M.J. 1986. Factors influencing the evolution of acoustic communication: biological constraints. Brain Behav. Evol. (28): 70-82.
- Schwartz, J.J. & Wells, K.D. 1983. The influence of background noise on the behaviour of neotropical treefrog, *Hyla ebriccata*. Herpetologica (39): 121-129.
- Silva, R.A., Martins, I.A. & Rossa-Feres, D.C. 2008. Bioacústica e sítio de vocalização em taxocenoses de anuros de área aberta no noroeste paulista. Biot. Neotrop. 8(3): 123-134.
- Slabbekoorn, H. & Smith, T.B. 2002. Bird song, ecology and speciation. Phil. Trans. R. Soc. B: Biological Sciences (357): 493-503.
- Spieth, H.T. 1947. Sexual behaviour and isolation in *Drosophila*. The mating behaviour of species of the *willistoni* group. Evolution (1): 17-31.
- Tárano, Z. & Ryan, M.J. 2002. No pré-existing biases for heterospecific call traits in the frog *Physalaemus enesefae*. Anim. Behav. (64): 599-607.

- Tinbergen, N. 1959. Comparative studies of the behaviour of gulls (Laridae): a progress report. *Behaviour* (15): 1-70.
- Van Tets, G.F. 1965. A comparative study of some social communication patterns in the Pelecaniformes. *Ornithol. Monogr.* (2): 1-88.
- Viellard, J.M.E. 1990. A diversidade de sinais e sistemas de comunicação sonora na fauna brasileira. I Seminário Música Ciência e tecnologia: Acústica Musical Unicamp: 20pp.
- Walkowiak, W. 1988. Central temporal encoding. In: The evolution of the amphibian auditory system. Fritsch, B.; Ryan, M.J.; Wilczynski, W.; Hetherington, T.E. & Walkowiak, W. (Eds.) New York: John Wiley: 275-294.
- Waser, P.M. & Brown, C.H. 1986. Habitat acoustics and primate communication. *Amer. J. Primat.* (10): 135-154.
- Wells, K.D. & Schwartz, J.J. 1982. The effect of vegetation on the propagation of calls in the neotropical frog *Centronella fleisehmanni*. *Herpetologica* (38): 449-455.
- Wells, K.D. 1977. The social behaviour of anuran amphibians. *Anim. Behav.* (25): 666-693.
- Wells, K.D. 1980. Intra e interespecific communication in the neotropical frog *Hyla ebraccata*. *Amer. Zool.* 20(4): 724.
- Wells, K.D. 1988. The effects of social interactions on anuran vocal behaviour. In: The evolution of the amphibian auditory system. Fritsch, B, Ryan, M.J., Wilczynski, W., Hetherington, T.E. & Walkowiak, W. (Eds.). New York: John Wiley 433-454.
- Wells, K.D. 2007. The ecology and behavior of amphibians. University of Chicago Press, Chicago, USA: 1148pp.
- Whitman, C.O. 1899. Animal behaviour. In: Biological Lectures, Woods Hole. Whitman, C.O. (Ed.). Boston: Ginn.: 285-338.

- Wiley, R.H. & Richards, D.G. 1978. Physical constraints on acoustic communication in the atmosphere: Implications for the evolution of animal vocalizations. *Behav. Ecol. Sociobiol.* (3): 69-94.
- Wiley, R.H. 1991. Associations of song properties with habitats for territorial oscine birds of eastern North America. *Am. Nat.* (138): 973-993.
- Zakon, H.H. & Wilczynski, W. 1988. The physiology of the anuran eighth nerve. In: *The evolution of the amphibian auditory system.* Fritsch, B.; Ryan, M.J.; Wilczynski, W.; Hetherington, T.E. & Walkowiak, W. (Eds.) New York: John Wiley: 125-155.
- Zimmermann, B.L. 1983. A comparison of structural features of calls of open and forest habitat frog species in the Central Amazon. *Herpetologica* (39): 235-246.
- Zimmermann, B. & Bogart, J.P. 1984. Vocalizations of primary Forest frog species in central Amazon. *Acta Amazônica* 14(3-4): 473-519.

# Capítulo I

Análises Bioacústicas em espécies do grupo *Physalaemus cuvieri*,  
Fitzinger, 1826

Silva, R.A.<sup>1</sup> & Martins, I.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pós-Graduação em Biologia Animal, UNESP, São José do Rio Preto, São Paulo,  
Brasil. 15054-000.

E-mail: [silva7554@yahoo.com.br](mailto:silva7554@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Instituto Básico de Biociências - Laboratório de Zoologia - UNITAU, Taubaté, São  
Paulo, Brasil.

E-mail: [istama@uol.com.br](mailto:istama@uol.com.br)

## Resumo

A determinação e as análises dos parâmetros bioacústicos possibilitam a correta identificação de espécies de anuros e podem também refletir características dos ancestrais e possíveis adaptações ambientais do canto. Neste trabalho, são descritos os cantos de anúncio de espécies do grupo *Physalaemus cuvieri* (Anura, Leptodactylidae). Os parâmetros bioacústicos espectrais e temporais dos cantos são comparados qualitativa e quantitativamente para avaliar se influenciam a segregação dos cantos e para determinar a similaridade entre os cantos dessas espécies crípticas. Apenas o canto de *P. cicada* é formado por uma série de notas repetitivas. Estruturas harmônicas aparecem tanto em cantos de nota simples como em canto com repetição de notas. Todos os parâmetros bioacústicos analisados segregam significativamente os cantos, mas a frequência máxima, a duração da nota e a frequência dominante são os parâmetros mais eficientes para a diferenciação. A similaridade dos parâmetros bioacústicos dos cantos não é relacionada com a distribuição geográfica das espécies. As espécies alopátricas demonstram maior similaridade do canto do que as espécies simpátricas. Nas espécies simpátricas analisadas, *P. cuvieri*, *P. ephippifer* e *P. fischeri*, verifica-se sobreposição de parâmetros espectrais, já em *P. cuvieri*, *P. kroyeri* e *P. centralis*, ocorre sobreposição dos parâmetros temporais. Esses dados indicam que a sobreposição completa dos parâmetros do canto não ocorre e, caso espécies simpátricas ocupem o mesmo espaço acústico, a segregação dos cantos se dá pelos parâmetros temporais. Apesar da alta semelhança morfológica dessas espécies intragenéricas, amplamente citadas na literatura como crípticas, os cantos de anúncio das espécies analisadas diferem, apresentando segregação tanto nos parâmetros espectrais quanto nos temporais. Pesquisas adicionais, incluindo outros grupos intragenéricos, permitirão



entender melhor a importância do canto de anúncio no reconhecimento das espécies, possibilitando a identificação de possíveis homologias entre parâmetros bioacústicos.

Palavras-chave: Espécies crípticas, segregação acústica, canto de anúncio, similaridade, parâmetros espectrais e temporais.

## Abstract

The determination and analysis of bioacoustics parameters allow the proper identification of anurans species as well as reflection of ancestors' features and possible environmental adaptations in vocalization. In this paper, are described the advertisement calls of species from the *Physalaemus cuvieri* group (Anura, Leptodactylidae). The spectral and temporal bioacoustics parameters are compared both quantitative and qualitatively in order to evaluate if they have an influence on the segregation of calls and determine the similarity between the different vocalizations within these cryptic species. Only the *P. cicada* call is formed by a series of repetitive notes. Harmonic structures are observed in simple notes calls as well as in repetitive notes calls. All the analyzed bioacoustics parameters significantly segregate the different calls but the maximum frequency, note length and dominating frequency are the most effective parameters in calls differentiation. The similarity of calls bioacoustics parameters is not related with sympatric species' geographic distribution. The allopatric species demonstrate greater cantus similarity than sympatric species. On the sympatric species analyzed, *P. cuvieri*, *P. ephippifer* and *P. fischeri*, is observed the overlapping of spectral parameters whereas the *P. cuvieri*, *P. kroyeri* and *P. centralis* present overlapping in the temporal parameters. Despite the great morphological similarity between these intrageneric species, widely mentioned as cryptic, the analyzed advertisement calls differ, presenting segregation in spectral and temporal parameters. Additional research, including other intrageneric groups, will allow a better grasp of advertisement call importance in species recognition, permitting the identification of possible homologies between bioacoustics parameters.

Keywords: cryptic species, acoustic segregation, advertisement call, similarity, spectral and temporal parameters.

## **Introdução**

Os sinais acústicos dos anuros constituem excelentes padrões de comportamento para estudos comparativos, sendo o principal componente do reconhecimento das espécies e escolha de parceiros para a reprodução (Wells, 2007). O comportamento de vocalização e o sistema sensorial desenvolvido na percepção do canto foram extensivamente estudados, tornando-se um dos melhores modelos de sistema de compreensão da comunicação animal (Vielliard, 1983; Fritsch *et al.*, 1988; McClelland *et al.*, 1996; Wilczynski *et al.*, 2001; Gerhardt & Huber, 2002; Gridi-Papp & Ryan, 2006), assim como a estrutura do sistema auditivo e sua relação com as características do canto (Capranica 1965, Fuzessery 1988, Walkowiak 1988, Zakon & Wilczynski 1988; Gerhardt *et al.*, 2007). Entre os anuros, o canto é um sinal acústico repetitivo e relativamente curto, cujas características podem ser quantificadas usando-se métodos padronizados de análise sonora, sendo as medições objetivas e repetíveis (Cocroft & Ryan, 1995).

Dentre os diversos tipos de cantos emitidos pelos anuros, o canto de anúncio (advertisement call – sensu Wells, 1977) tem como função atrair as fêmeas no período reprodutivo, manter o espaçamento entre machos coespecíficos, auxiliar as estratégias de defesa de território e minimizar a competição intraespecífica (Duellman & Trueb, 1994; Wells, 2007; Amézquita *et al.*, 2009). O canto de anúncio, definido como “canto funcional” (Vielliard, 1987) com estrutura espécie-específica, é onde se manifestam as diversas pressões evolutivas. Assim, o canto de anúncio é de grande importância na identificação taxonômica em campo e também na diferenciação de espécies crípticas (De La Riva *et al.*, 1995), além de uma importante ferramenta para determinar diferenças, similaridades e a posição taxonômica e filogenética entre táxons (Cocroft, 1994; Hartmann *et al.*, 2002).

Além da atração de fêmeas coespecíficas como parceiros de acasalamento, a função da comunicação dos anuros é o reconhecimento de machos coespecíficos (Wells, 1977; Rand, 1988; Ryan, 1988). A correspondência entre os cantos coespecíficos e o sistema auditivo do receptor depende de vários critérios acústicos (Gerhardt & Huber, 2002), como propriedades espectrais, temporais ou uma combinação de ambos. Para comunicação de espécies sintópicas e sincrônicas, padrões do canto devem fornecer a identificação correta espécie-específica (Ryan, 1988).

Diversos estudos têm mostrado que cantos de espécies de anuros que co-ocorrem diferem significativamente os valores médios de suas propriedades acústicas (Fouquette, 1960; Duellman, 1967; Hödl, 1977; Drewry & Rand, 1983; Duellman & Pyles, 1983; Schwartz & Wells, 1984; Garcia-Rutledge & Narins, 2001; Martins *et al.*, 2006). No entanto, mesmo quando os meios de emissão do som são diferentes, as distribuições das propriedades bioacústicas de espécies diferentes muitas vezes sobrepõem (Fouquette, 1960; Duellman & Pyles, 1983; Schwartz & Wells, 1984).

A estrutura do canto dos anuros também pode variar desde uma nota simples a um repertório sucessivo de notas, podendo ser moduladas ou unimodais, variar na amplitude, frequência ou ambos (Martin, 1971; McLister *et al.*, 1995; McLister 2001; Gridi-Papp, 2003). É conveniente o uso de parâmetros acústicos como unidades para a comparação de sinais acústicos em anuros, mas as unidades mecânicas (nota) e acústicas (estrutura do canto) podem evoluir em caminhos distintos, principalmente em espécies fortemente relacionadas (Robillard *et al.*, 2006). Os parâmetros do canto estereotipados como os harmônicos tendem a ser conservativos ou mais similares entre espécies próximas (Cocroft & Ryan, 1995). Assim, determinados parâmetros do canto possuem um forte sinal filogenético por estarem diretamente relacionados com o

reconhecimento específico, assim como outros devem ser mais plásticos, refletindo as condições ambientais (Robillard *et al.*, 2006).

O gênero *Physalaemus* Fitzinger, 1826, é composto por 45 espécies e distribuídas do México à Argentina (Frost, 2012). Nascimento e colaboradores (2005) em revisão taxonômica definiram sete grupos dentro do gênero, dentre eles, o grupo *Physalaemus cuvieri*, composto por nove espécies: *P. albonotatus* (Steindachner, 1864), *P. centralis* Bokermann, 1962, *P. cicada* Bokermann 1966, *P. cuqui* Lobo, 1993, *P. cuvieri* Fitzinger, 1826, *P. ephippifer* (Steindachner, 1864), *P. erikae* Cruz & Pimenta, 2004, *P. fischeri* (Boulenger, 1890) e *P. kroyeri* (Reinhardt & Lutken, 1862). O grupo *P. cuvieri* é amplamente distribuído de Norte a Sul da América do Sul, do leste da Cordilheira dos Andes da Argentina até a Venezuela (Nascimento *et al.*, 2005). Mas, em grupos constituídos de espécies crípticas, a identificação das espécies com base exclusivamente em características morfológicas não é confiável (Barrio, 1965), dificultando a identificação de novas espécies (Conte *et al.*, 2011). Apesar desse cenário de proximidade taxonômica, diferenças bioacústicas, tanto espectrais quanto temporais, são esperadas no canto de anúncio como já demonstradas para outros grupos do gênero *Physalaemus* (Weber, 2005; Cassini *et al.*, 2010). Mas, esta visão de analisar a plasticidade e conservação dos parâmetros bioacústicos entre espécies taxonomicamente próximas é raramente investigada (Gerhardt, 1991). Assim, a delimitação desses parâmetros para a correta identificação das espécies é relevante, apresentando caracteres que refletem características dos ancestrais e das possíveis adaptações ambientais, que se torna necessário para definir a diversidade de um ambiente e fornecer informações taxonômicas das espécies de anuros (Bickford *et al.*, 2007). Sendo assim, a descrição desse tipo de vocalização é importante tanto para estudos envolvendo taxonomia quanto para ecologia comportamental (Martino & Sinschi, 2002).

Neste trabalho nosso objetivo foi descrever os cantos de anúncio e comparar qualitativa e quantitativamente os parâmetros bioacústicos tanto espectrais quanto temporais, das nove espécies intragenéricas do grupo *Physalaemus cuvieri* (Anura, Leptodactylidae), respondendo às seguintes questões: I) quais parâmetros bioacústicos influenciam a segregação acústica e a discriminação entre as espécies crípticas do grupo *P. cuvieri*? II) Qual o grau de similaridade do canto de anúncio e a distribuição geográfica das espécies do grupo *P. cuvieri*? Deste modo, os parâmetros acústicos dos sinais sonoros podem fornecer homologias robustas para uso em estudos comparativos das vocalizações de anuros e para derivar e testar hipóteses evolucionistas produzindo informações filogenéticas consistentes (Robillard *et al.*, 2006).

## **Metodologia**

Foram analisados os cantos de nove espécies pertencentes ao gênero *Physalaemus*, grupo *P. cuvieri*: *P. albonotatus*, *P. centralis*, *P. cicada*, *P. cuqui*, *P. cuvieri*, *P. ephippifer*, *P. erikae*, *P. fischeri* e *P. kroyeri*, (*sensu*, Nascimento *et al.*, 2005). Estas espécies estão distribuídas por toda América do Sul (Fig. 1).

Os dados foram coletados de arquivos sonoros cedidos por pesquisadores (Tab. I) e, quando possível, foram amostrados cantos de anúncio de machos de duas (ou mais) populações geograficamente separadas para o estudo de toda a variação intraespecífica existente, entre indivíduos e entre populações geograficamente separadas, garantindo uma boa representação e possibilitando uma representação segura das espécies (Nevo & Capranica, 1985; Gerhardt, 1991; Ryan & Wilczynski, 1991).

Foram analisados dez parâmetros bioacústicos separados em parâmetros espectrais e temporais (Tab. II). As definições dos parâmetros foram adaptadas de Duellman (1970), Wells (1977; 1988); Duellman & Pyles (1983); Ryan (1985);

Duellman & Trueb (1994); Schwartz (1987); Cocroft & Ryan (1995); Gerhardt e colaboradores (1998) e Ryan (2001).

Os cantos foram digitalizados e analisados no programa computacional Raven Pro 1.3 (Cornell Bioacoustics Research Program – sob licença do Laboratório de Herpetologia do Depto. Zoologia, IB, Unesp, Rio Claro) com uma frequência de amostragem de 44.1 kHz, 16 bit de resolução e canal mono. Foi utilizado filtro de 256 bandas e, quando necessário, a opção de 1024 bandas. O sonograma foi analisado com 50% de brilho e 50% de contraste. Foram analisados três tipos de gráficos do canto: 1) sonogramas, com uma escala de frequência entre 0 e 10.000 Hertz e a escala de tempo em segundos, de onde foi extraída a estrutura das notas que compunham os cantos; 2) oscilogramas, que representam a intensidade do som ao longo do tempo que foi utilizado na análise da duração do canto, nota e pulso; 3) espectro de potência relacionando a frequência e amplitude importante nas medições da faixa de frequência, frequência dominante e presença de harmônicos na nota.

#### ANÁLISE DOS DADOS

Foram registrados as médias e desvios-padrão de cada um dos parâmetros acústicos, assim como os valores mínimos e máximos utilizados para a descrição dos cantos de anúncio das nove espécies estudadas.

Para determinar se houve diferença em oito parâmetros bioacústicos foi usada a análise de variância (ANOVA) e o nível de significância considerado foi de  $p < 0,05$ . Foi aplicado um teste de Fischer LSD Post hoc (Zar, 1999) e posteriormente confeccionados gráficos Box-Plot que mostraram quais pares de espécies tiveram ou não diferença nas médias para cada parâmetro bioacústico. Foram analisados a frequência mínima, máxima e dominante além da duração da nota e intervalo entre as notas, duração e número de pulsos. Os dados foram logaritmizados (Ln) para a

adequação das premissas do teste. O número de notas e a presença de harmônicos na nota não foram utilizados nesse teste por serem parâmetros binários.

O grau de similaridade entre o canto de anúncio das espécies foi determinado por meio do método de distância euclidiana, medida de dissimilaridade, para o conjunto de dados, para os parâmetros espectrais e temporais. Também foi aplicada a análise de *bootstrap* para definir os agrupamentos válidos no uso do espaço bioacústico. As análises foram realizadas em programa computacional utilizando o método de média não ponderada para construção do dendrograma (Krebs, 1999). Os dados foram logaritmizados para a padronização.

## **Resultados**

### DESCRIÇÃO DOS CANTOS DAS ESPÉCIES DO GRUPO *P. CUVIERI* (Tab. III).

Dentre as espécies analisadas, o canto é formado por uma única nota, somente o canto de *P. cicada* é formado por uma série de notas pequenas repetidas por um período prolongado. Nos parâmetros espectrais, o grupo *P. cuvieri* ocupa uma ampla faixa de frequência, de 0,29 a 4,3 kHz, com frequência dominante (maior energia da nota) entre 0,68 e 3,00 kHz. Entre os parâmetros temporais, a duração da nota apresenta grande variação, entre 0,02 e 1,61 segundos; bem como o intervalo entre as notas, entre 0,02 e 9,17 segundos. O pulso, constituinte da nota, varia na duração entre 0,002 e 0,004 segundos; a variação na taxa de emissão é de 6 a 700 pulsos por nota. A taxa de repetição da nota é de 7,23 a 1587 notas por minuto (Tab. III – Fig. 2).

### SEGREGAÇÃO DOS CANTOS

Os cantos são significativamente diferentes para todos os parâmetros analisados ( $p \leq 0,05$ ) (Tab. IV). A comparação par a par das espécies pelo teste de Fischer LSD “*Post hoc*” demonstra que parâmetros como a frequência máxima e o número de pulso



diferenciaram 97% dos pares de espécies formados, sem diferença significativa para os valores do canto de *P. cuqui* e *P. kroyeri* ( $p = 0,09$ ) e *P. cuvieri* e *P. kroyeri* ( $p = 0,86$ ), respectivamente. A duração da nota diferencia 94,5% dos pares de espécies, sem diferença para os valores de *P. centralis* e *P. kroyeri* ( $p = 0,6$ ) e *P. cuvieri* e *P. ephippifer* ( $p = 0,07$ ). A frequência dominante diferencia 89% dos pares de espécies, não diferencia os valores de *P. albonotatus* e *P. cuqui* ( $p = 0,17$ ), *P. albonotatus* e *P. kroyeri* ( $p = 0,23$ ), *P. cicada* e *P. erikae* ( $p = 0,35$ ), *P. erikae* e *P. kroyeri* ( $p = 0,18$ ). O intervalo entre as notas diferencia 83% dos pares de espécies, sem diferença para os valores de *P. albonotatus* e *P. cuvieri* ( $p = 0,18$ ), *P. centralis* e *P. cicada* ( $p = 0,1$ ), *P. centralis* e *P. fischeri* ( $p = 0,46$ ), *P. centralis* e *P. kroyeri* ( $p = 0,07$ ), *P. cicada* e *P. fischeri* ( $p = 0,37$ ), *P. cuvieri* e *P. kroyeri* ( $p = 0,1$ ). A frequência mínima diferencia 78% dos pares de espécies, sem diferença para os valores de *P. albonotatus* e *P. cuqui* ( $p = 0,11$ ), *P. albonotatus* e *P. cuvieri* ( $p = 0,52$ ), *P. centralis* e *P. cuqui* ( $p = 0,3$ ), *P. centralis* e *P. erikae* ( $p = 0,4$ ), *P. centralis* e *P. fischeri* ( $p = 0,3$ ), *P. cuqui* e *P. erikae* ( $p = 0,9$ ), *P. cuqui* e *P. fischeri* ( $p = 0,06$ ), *P. erikae* e *P. fischeri* ( $p = 0,15$ ). Já parâmetros como a taxa de repetição da nota e duração do pulso diferencia 72% e 67% dos pares de espécies, respectivamente (Fig. 3).

#### ANÁLISE DE SIMILARIDADE

A similaridade dos parâmetros espectrais dos cantos de anúncio dispõe as espécies em dois agrupamentos (Fig. 4a): I) *P. cuqui*, *P. erikae*, *P. kroyeri* com alta frequência dominante e II) *P. cuvieri*, *P. ephippifer* e *P. fischeri* com baixa frequência dominante (Fig. 4a). Em ambos os agrupamentos os cantos são formados com uma única nota, com harmônicos. O agrupamento I reúne espécies com distribuição geográfica distintas. No agrupamento II apenas as espécies *P. cuvieri* e *P. ephippifer* têm sobreposição na distribuição geográfica (Fig. 1). O canto de *P. cicada* apresenta

menor similaridade às demais espécies, com as maiores médias para todos os valores dos parâmetros espectrais e canto formado por repetição de notas curtas sucessivas (Tab. III). Já as espécies *P. centralis* e *P. albonotatus*, apesar de possuem certa sobreposição nas áreas de ocorrência, os valores dos parâmetros espectrais no canto os diferenciam (Fig. 3a, b, c). Os parâmetros temporais do canto de anúncio dispõem as espécies três agrupamentos (Fig. 4b): III) *P. cuqui* e *P. albonotatus*, espécies com distribuições geográficas adjacentes (Fig. 1) com os maiores valores médios para o número de pulsos e as menores taxas de repetição da nota; IV) *P. ephippifer* e *P. erikae* onde os cantos se caracterizam por terem os maiores valores para o intervalo entre as notas/canto, sendo espécies com distribuições geográficas distintas (Fig. 1) e; V) *P. cuvieri*, *P. kroyeri* e *P. centralis* com menor intervalo entre as notas, são espécies com sobreposição na área de ocorrência (Fig. 1). O dendrograma formado com todos os valores, espectrais e temporais, do canto demonstra a similaridade entre os cantos de anúncio de *P. cuqui*, *P. erikae* e *P. ephippifer*, espécies com cantos com baixa frequência mínima, alta frequência máxima e dominante, notas longas e longo intervalo entre as notas e baixa taxa de repetição das notas. Os cantos de *P. cuvieri* e *P. kroyeri* também são similares, apresentando cantos com notas curtas, curto intervalo entre as notas e alta taxa de repetição das notas. Os cantos das demais espécies não formam agrupamentos robustos, possuindo o canto de *P. cicada* a maior dissimilaridade entre as espécies estudadas (Fig. 4c).

## Discussão

Os dados dos cantos de anúncio de *P. cicada*, *P. cuqui*, *P. cuvieri*, *P. fischeri* e *P. kroyeri* são semelhantes aos dados disponíveis para comparação (Bokermann, 1966; Ferrari & Vaira, 2001; Heyer *et al.*, 1990; Pombal Jr., 2010; Tárano, 2001). As

discordâncias nos parâmetros acústicos são encontradas em *P. erikae*, *P. ephippifer* e *P. albonotatus*, diferindo mais nos valores temporais do que espectrais. Cruz & Pimenta (2004) descrevem o canto de *P. erikae* com o intervalo entre as notas de 13,42 segundos (9,17 segundos no presente trabalho); frequência dominante de 3,22 kHz (2,77 kHz no presente estudo). Kaefer e colaboradores (2011) descrevem para *P. ephippifer*, a duração da nota de 0,41 segundos (0,27 segundos, presente estudo) e a taxa de repetição do canto de 11,75 notas por minuto (13,22 notas por minuto, presente estudo). Straneck e colaboradores (1993) descrevem o canto de *P. albonotatus* com duração da nota de 0,8 a 1,1 segundos (1,43 segundos, presente estudo) e a taxa de repetição de 8,4 notas por minuto (12,29 notas por minuto, presente estudo). Essas variações nos valores dos parâmetros temporais também são encontradas em comparações de cantos de anuros do hemisfério Norte com relevante relação dos parâmetros temporais com o reconhecimento específico no gênero *Bufo* (Ryan & Sullivan, 1989). De acordo com Pombal e colaboradores (1995), também é possível que esta variação seja causada por pequenas diferenças metodológica e de equipamentos empregados nas gravações, ou por diferenças nas análises sonográficas (como pudemos observar na seleção do programa sonográfico a ser utilizado) ou pela variação populacional e/ou geográfica. Alguns dos parâmetros em que foram observadas diferenças são parâmetros dinâmicos, como intervalo entre notas, taxa de repetição do canto, os quais são influenciados pelo comportamento social em coro (Martins & Jim, 2003; 2004). Sendo assim, os dados obtidos corroboram e ampliam os dados já disponíveis na literatura.

Analisando a estrutura bioacústica do canto de anúncio das espécies do grupo *P. cuvieri*, verifica-se que o canto formado por mais de uma nota de *P. cicada* difere drasticamente do canto de anúncio das demais. Cantos com repetições de notas são emitidos por espécies do grupo *P. signifer* como *P. crombiei* e *P. nanus*, porém, são

cantos formados por um menor número de notas e conseqüentemente cantos com menor duração (Weber, 2005). Nas demais espécies do grupo *P. cuvieri*, o canto é formado por nota única com presença de estrutura harmônica. A relação de semelhança entre os cantos pode ser simples em grupos que usam mecanismos estereotipados na produção de som (Robillard *et al.*, 2006) como parece ser o caso das espécies do grupo *P. cuvieri*. Mas, a aplicação do princípio da homologia ao comportamento acústico necessita de uma análise mais cuidadosa das características comportamentais, só assim, podendo ser usada para definir grandes classes funcionais (Wenzel, 1992).

Todos os parâmetros bioacústicos, espectrais e temporais, influenciam na segregação dos cantos. Parâmetros como a duração da nota e as frequências máxima e dominante promovem maior segregação entre os cantos, sendo diretamente relacionados com o reconhecimento específico, do que parâmetros como a duração dos pulsos e a taxa de repetição que promovem uma menor segregação quando comparados aos outros parâmetros e devem refletir as condições ambientais (área aberta) (Robillard *et al.*, 2006). Assim, esta investigação do canto fornece pistas sobre quais parâmetros bioacústicos são importantes na discriminação entre congêneres (Gerhardt, 1991). Em hilídeos e leptodactilídeos, padrões sugerem que características temporais do canto estão envolvidas no isolamento de espécies, embora a frequência dominante também pudesse ser importante (ver Straughan & Heyer, 1976; Gerhardt, 1991; Martins & Jim, 2003; 2004). Nossos dados corroboram os de Ryan & Rand (1993) em que, entre os Leptodactylidae, a frequência dominante dos cantos de *Physalaemus fischeri* e *Engystomps pustulosus* se sobrepõe, assim como a frequência mínima, mas diferem na frequência máxima e na duração do canto. Com isso, as fêmeas conseguem rejeitar os cantos heteroespecíficos na ausência e na presença do canto coespecífico. Márquez e colaboradores (1995) chegam a conclusões semelhantes para os cantos de 23 espécies

(leptodactílídeos e leiuperídeos) da Bolívia. A duração da nota juntamente com a frequência máxima e/ou dominante são parâmetros suficientemente robustos para diferir os cantos desse grupo.

Apesar de serem espécies que ocupam o mesmo macrohabitat (áreas abertas), o grupo *P. cuvieri* possui espécies com distribuições geográficas restritas a determinadas regiões do continente, como as espécies *P. kroyeri* e *P. cicada* distribuídas na região nordeste, *P. ephippifer* e *P. fischeri* ocorrendo no Norte e *P. albonotatus* e *P. cuqui* com distribuição mais ao Sul do continente (Frost, 2012). Não há relação entre os parâmetros bioacústicos e a distribuição geográficas das espécies (ecorregião). A radiação adaptativa de anuros do gênero *Physalaemus* não influencia os parâmetros do canto, fato semelhante foi demonstrado por Robillard e colaboradores (2004) para ortópteros. As espécies alopátricas demonstram maior similaridade do canto entre os parâmetros bioacústicos do que as espécies simpátricas. As espécies simpátricas do grupo *P. cuvieri* com similaridade nos parâmetros espectrais diferenciam nos parâmetros temporais. Esses dados indicam que a sobreposição completa dos parâmetros bioacústicos não ocorre e, caso espécies simpátricas ocupem o mesmo espaço acústico, a segregação dos cantos se dará pelos parâmetros temporais (Silva *et al.* 2008). E, devido ao limitado repertório vocal dos anuros, convergências são esperadas (Duellman & Trueb, 1994; Martins *et al.*, 2006). Para Ossen & Wassersug (2002) cantos de espécies com reprodução explosiva respondem menos a variáveis ambientais do que as espécies de reprodução prolongadas, que respondem diferentemente para variáveis climáticas ao longo do período reprodutivo. Segundo Levin (1992), a escala de observação determina os padrões que podem ser observados. Portanto, é preciso analisar a estrutura do microhabitat ocupado por estas espécies para tirar quaisquer conclusões sobre a falta de relação entre o ambiente e as propriedades do canto dos anuros. Estudos em hilídeos

neotropicais indicam que cantos de espécies alopátricas aparentadas são mais similares que as vocalizações de espécies simpátricas; só havendo similaridade quando não são sintópicas e/ou sincrônicas (Duellman & Pyles 1983; Márquez *et al.*, 1993; Martins & Jim, 2003; 2004; Martins *et al.*, 2006). Martins & Jim (2004) encontraram grande semelhança nos cantos de populações de *Dendropsophus jimi* e *D. elianeae*, mas com diferenças na estrutura temporal nos dois padrões de vocalizações, onde ajustes acústicos podem permitir até a ocorrência sincronopátrica. Em estudos experimentais, com diferentes espécies de anuros, são encontradas diferenças na taxa de emissão de pulso suficientes para a seleção co-específica dos machos, com as fêmeas rejeitando cantos com taxas de emissões maiores ou menores (ver Gerhardt, 1988; Arak, 1988). As distâncias observadas entre os cantos das espécies no dendrograma não refletem, necessariamente, uma hipótese de relações filogenéticas. As diferenças encontradas entre as espécies simpátricas, por exemplo, podem ser um resultado de uma maior seleção entre elas, evitando a sobreposição no espaço acústico e permitindo a coexistência em mesmo tipo de macrohabitat.

Apesar da alta semelhança morfológica dessas espécies intragenéricas, amplamente citado na literatura como um grupo críptico, o canto de anúncio das espécies analisadas diferiu, apresentando segregação tanto nos parâmetros espectrais quanto temporais. O canto *P. cicada* diferiu dos demais, o restante das espécies compartilham das mesmas estruturas do canto. A distribuição geográfica da espécie não influencia nos parâmetros bioacústicos, com espécies alopátricas apresentando maior similaridade que espécies simpátricas. Estudos futuros sobre as relações entre os membros deste grupo usando dados morfológicos, moleculares juntamente com dados acústicos devem ser obtidos para a corroboração desses resultados. Pesquisas adicionais incluindo outros grupos intragenéricos permitirão entender melhor a importância do

canto de anúncio no reconhecimento específico das espécies, possibilitando a identificação de possíveis homologias dos parâmetros do canto de anúncio.

## **Conclusões**

Os parâmetros bioacústicos, espectrais e temporais, influenciam na segregação dos cantos desse grupo críptico. Parâmetros como as frequências, máxima e dominante, e a duração da nota foram os mais importantes na segregação dos cantos. Estão diretamente relacionados com o reconhecimento específico. Entretanto, parâmetros como a duração dos pulsos e a taxa de repetição promovem uma menor segregação quando comparados aos demais parâmetros, e devem refletir as condições ambientais. Mas a distribuição geográfica da espécie não influencia nos parâmetros bioacústicos, com espécies alopátricas apresentando maior similaridade que espécies simpátricas. Assim, esta investigação do canto fornece pistas sobre quais parâmetros bioacústicos são importantes na discriminação entre congêneres.

## **Agradecimentos**

Agradeço aos doutores Adrian Garda, Bruno V. S. Pimenta, Célio F. B. Haddad, Marcelo F. Napoli, Michel J. Ryan, Diego Baldo, Zaida Tárano, Jorge Jim (*in memoriam*) e ao Msc. André Pansonato por disponibilizar as gravações das espécies. Agradeço à Dra. Denise de Cerqueira Rossa-Feres pelo apoio moral e intelectual e por disponibilizar o Laboratório de Ecologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, UNESP de São José do Rio Preto – SP e ceder materiais para o desenvolvimento dos estudos. Agradeço também a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo suporte financeiro.

## Referências

- Amézquita, A.; Lima, A.P.; Jehle, R.; Castellanos, L.; Ramos, Ó.; Crawford, A. J.; Gasser, H. & Hödl, W. 2009. Calls, colours, shape, and genes: a multi-trait approach to the study of geographic variation in the Amazonian frog *Allobates femoralis*. Biol J. of the L. Soc. (98): 826-838.
- Arak, A. 1988. Callers and satellites in the natterjack toad: evolutionary stable decision rules. Anim. Behav. (36): 416-432.
- Barrio, A. 1965. El género *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) en la Argentina. Physis (25): 421-448.
- Bickford, D.; Lohman, D.J.; Sodhi, N.S.; Ng, P.K.L.; Meier, R.; Winker, K.; Ingram, K.K. & Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. Trends. Ecol. Evol. (22): 148–155.
- Bioacoustics Research Program. 2008. Raven Pro: Interactive Sound Analysis Software (Version 1.3) [Computer software]. Ithaca, NY: The Cornell Lab of Ornithology. Acesso em <http://www.birds.cornell.edu/raven>.
- Bokermann, W.C.A. 1966. Notas sobre três espécies de *Physalaemus* de Maracás, Bahia (Amphibia, Leptodactylidae). Ver. Bras. de Biol. 26(3): 253-259.
- Capranica, R.R. 1965. The vocal response of the bullfrog. Cambridge, Massachusetts: MIT Press: 107pp.
- Cassini, C.S.; Cruz, C.A.G. & Caramaschi, U. 2010. Taxonomic review of *Physalaemus olfersii* (Lichtenstein & Martens, 1856) with revalidation of *Physalaemus lateristriga* (Steindachner, 1864) and description of two new related species (Anura: Leiuperidae). Zootaxa (2491): 1-33.
- Cocroft, R.B. & Ryan, M.J. 1995. Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs. Anim. Behav. (49): 283-303.



- Cocroft, R.B. 1994. A cladistic analysis of chorus frog phylogeny (Hylidae: Pseudacris). *Herpetologica* (50): 420-437.
- Conte, M.; Zucchi, M.I.; Andrade, G.V.; Souza, A.P. & Recco-Pimentel, S.M. 2011. Study of closely related species within the *Physalaemus cuvieri* group (Anura): contribution of microsatellite markers. *Genet. Mol. Res.* 10(3): 1434-1444.
- Cruz, C.A.G. & Pimenta, B.V.S. 2004. New species of *Physalaemus* Fitzinger, 1826 from Southern Bahia, Brazil (Anura; Leptodactylidae). *J. Herpet.* 38(4): 480-486.
- De La Riva, I.; Márquez, R. & Bosch, J. (1995): Advertisement calls of eight Bolivian hylids (Amphibia, Anura). *J. Herpetol.* (29): 113-118.
- Drewry, G.E., Rand, A.S. 1983. Characteristics of an acoustic community: Puerto Rican frogs of the genus *Eleutherodactylus*. *Copeia*: 941-953.
- Duellman, W.E. & Pyles R.A. 1983. Acoustic resource partitioning in anuran communities. *Copeia*: 639-649.
- Duellman, W.E. & Trueb, L. 1994. *Biology of Amphibians*. Baltimore and London, McGraw-Hill: 670pp.
- Duellman, W.E. 1967. Courtship isolating mechanisms in Costa Rican hylid frogs. *Herpetologica* (23): 169-183.
- Duellman, W.E. 1970. The hylid frogs of Middle America. *Univ. Kans. Monogr. Mus. nat. Hist.* (1): 1-427.
- Ferrari, L. & Vaira, M. 2001. Advertisement call and breeding activity of *Physalaemus cuqui* (Lobo, 1993). *Herpetological Bulletin* (77): 20-22.
- Fouquette, M.J. (1960): Isolating mechanisms in three sympatric treefrogs in the canal zone. *Evolution* (14): 484-497.
- Fritsch, B.; Ryan, M.J.; Wilczynski, W.; Hetherington, T.E. & Walkowiak, W. 1988. *The evolution of the amphibian auditory system*. New York: John Wiley: 650pp.

- Frost, D.R. 2012. Amphibian Species of the World: An online reference. V.5.1. Disponível em: <<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>>. American Museum of History, New York, USA. Acesso em: 05.02. 2012.
- Fuzessery, Y.M. 1988. Frequency tuning in the anuran central auditory system. In: The evolution of the amphibian auditory system. Fritsch, B; Ryan, M.J.; Wilczynsky, W.; Hetherington, T.E. & Walkowiak, W. (Eds.) New York, John Wiley: 253-273.
- Garcia-Rutledge, E.J. & Narins, P.M. 2001. Shared acoustic resources in an old world frog community. *Herpetologica* (57): 104-116.
- Gerhardt, H.C. & Huber, F. 2002. Acoustic Communication in Insects and Anurans: common problems and diverse solutions. University of Chicago Press, Chicago and London: 531pp.
- Gerhardt, H.C. & Klump, G.M. 1988. Masking of acoustic signals by the chorus background noise in the green treefrog: a limitation on mate choice. *Anim. Behav.* (36): 1247–1249.
- Gerhardt, H.C. 1991. Female mate choice in treefrog: static and dynamic criteria. *Anim. Behav.* (42): 615-635.
- Gerhardt, H.C. 1998. Acoustic signals of animals: recordings, field measurements, analysis and description. In: *Animal Acoustic Communication*. Hopp, S.L.; Owren, M.J. & Evans, C.S. (Eds.). Berlin: Springer Verlag: 1-25.
- Gerhardt, H.C., Huber, F. 2002. Acoustic Communication in Insects and Anurans. Common Problems and Diverse Solutions. Chicago, Chicago Univ. Press: 165pp.
- Gerhardt, H.C.; Martínez-Rivera, C.C.; Schwartz, J.J.; Marshall, V.T. & Murphy, C.G. 2007. Preferences based on spectral differences in acoustic signals in four species of treefrogs (Anura: Hylidae). *J. Exp. Biol.* (210): 2990-2998.

- Gridi-Papp, M. 2003. Mechanism, behaviour and evolution of calling in four north american treefrogs. Tese PhD, Universidade do Texas, Austin: 177pp.
- Gridi-Papp, M., Rand, A.S. & Ryan, M.J. 2006. Complex call production in túngara frogs. *Nature* (441): 38.
- Hartmann, M.T.; Hartmann, P.A. & Haddad, C.F.B. 2002. Advertisement calls of *Chiasmocleis carvalhoi*, *Chiasmocleis mehelyi*, and *Myersiella microps* (Microhylidae). *J. Herpetol.* (36): 509-511.
- Heyer, W.R.; Rand, A.S.; Cruz, C.A.G.; Peixoto, O.L. & Nelson, C.E. 1990. Frogs of Boracéia. *Arquivos de Zoologia* 31(4): 231-410.
- Hödl, W. 1977. Call differences and calling site segregation in anuran species from Central Amazonian floating meadows. *Oecologia* (28): 351-363.
- IUCN, Conservation International, and NatureServe. 2006. Global Amphibian Assessment. Accessible at <http://www.globalamphibians.org>. Acesso em: 04.08.2012.
- Kaefer, I.L.; Erdtmann, L.K. & Lima, A.P. 2011. The advertisement call of *Physalaemus ephippifer* (Anura: Leiuperidae) from Brazilian Amazonia. *Zootaxa* (2929): 57–58.
- Krebs, C.J. 1999. *Ecological methodology*. Addison Wesley Educational Publishers, Menlo Park: 607pp.
- Levin, S.A. 1992. The problem of pattern and scale in ecology. *Ecology* (73): 1943–1967.
- Márquez, R.; De La Riva, I. & Bosch, J. 1993. Advertisement calls of Bolivian species of *Hyla*. *Biotropica* (25): 426-443.
- Márquez, R.; De La Riva, I. & Bosch, J. 1995. Advertisement Calls of Bolivian Leptodactylidae (Amphibia, Anura). *J. Zool.* (237): 313-336.

- Martin, W.F. 1971. Mechanics of sound production in toads of the genus *Bufo*: passive elements. *J. Exp. Biol.* (204): 69-80.
- Martino, A.L. & Sinsch, U. 2002. Speciation by polyploidy in *Odontophrynus americanus*. *J. Zool.*, (257): 67-81.
- Martins, I.A. & Jim, J. 2003. Bioacoustic analysis of advertisement call in *Hyla nana* and *Hyla sanborni* in Botucatu, São Paulo, Brazil. *J. Biol.* (63): 507-516.
- Martins, I.A. & Jim, J. 2004. Advertisement call of *Hyla jimi* and *Hyla elianeae* (Anura, Hylidae) in Botucatu Region, São Paulo, Brazil. *J. Biol.* (64): 645-654.
- Martins, I.A.; Almeida, S.C. & Jim, J. 2006. Calling sites and acoustic partitioning in species of the *Hyla nana* and *Hyla rubicundula* group. *Herpetological Journal* (16): 239-247.
- McClelland, B.E.; Wilczynski, W. & Ryan, M.J. 1996. Correlations between call characteristics and morphology in male cricket frogs (*Acris crepitans*). *J. Exp. Biol.* (199): 1907–1919.
- McLister, J.D. 2001. Physical factors affecting the cost and efficiency of sound production in the *Hyla versicolor*. *J. Exp. Biol.* (204): 69-80.
- McLister, J.D.; Stevens, E.D. & Bogart, J.P. 1995. Comparative contractile dynamics of calling and locomotion muscles in three hylid frogs. *J. Exp. Biol.* (198): 1527-1538.
- Nascimento, L.B.; Caramaschi, U. & Cruz, C.A.G. 2005. Taxonomic review of the species groups of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 with *Eupemphix* Steindachner, 1836 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Arquivos do Museu Nacional* 63(2): 297-320.
- Nevo, E. & Capranica, R.R. 1985. Evolutionary origin of ethological reproductive isolation in cricket frogs, *Acris*. *Evol. Biol.* (19): 147–214.

- Ossen, K.L. & Wassersug, R.J. 2002. Environmental factors influencing calling in sympatric anurans. *Oecologia* (133): 616–625.
- Pombal Jr., J.P. 2010. O espaço acústico em uma taxocenose de anuros (Amphibia) do Sudeste do Brasil. *Arquivos do Museu Nacional*, 68(1-2): 135-144.
- Pombal Jr., J.P.; Haddad, C.F.B. & Kasahara, S. 1995. A new Species of *Scinax* (Anura: Hylidae) from southeastern Brazil, with comments on the genus. *J. Herpet.* (29): 1-6.
- Rand, S. 1988. An overview of anuran acoustic communication. In: *The Evolution of the Amphibian Auditory System*. Fritsch, B., Ryan, M.J., Wilczynski, W., Hetherington, T.E., Walkowiak, W., (Eds.), New York, John Wiley & Sons, Inc.: 415-431.
- Robillard, T. & Desutter-Grandcolas, L. 2004. Evolution of acoustic communication in crickets: phylogeny of Eneopterinae reveals an adaptive radiation involving high-frequency calling (Orthoptera, Grylloidea, Enopteridae). *A. Acad. Brasil. Cie.* 76(2): 297-300.
- Robillard, T.; Höbel, G. & Gerhardt, C. 2006. Evolution of advertisement signals in North American hylid frogs: vocalizations as end-products of calling behaviour. *Cladistics* (22): 533-545.
- Ryan, M.J. & Wilczynski, W. 1991. Evolution of intraspecific variation in the advertisement call of a cricket frog (*Acris crepitans*, Hylidae). *Biol. J. Linnean Soc.* (44): 249–271.
- Ryan, M.J. & Rand, A.S. 1993. Species recognition and sexual selection as a unitary problem in animal communication. *Evolution* (47): 647-657.

- Ryan, M.J. & Sullivan, B.K. 1989. Transmission effects on patterns of amplitude modulation in the advertisement calls of two toads, *Bufo woodhousii* and *Bufo valliceps*. *Ethology* (80): 182-189.
- Ryan, M.J. 1985. The Túngara Frog, a Study in Sexual Selection and Communication. Chicago: University of Chicago Press.: 230pp.
- Ryan, M.J. 1988. Constraints and patterns in the evolution of anuran acoustic communication. In: The Evolution of the Amphibian Auditory System. Frittsch, B., Ryan, M.J., Wilczynski, W., Hetherington, T.E., Walkowiak, W., (Eds.), New York, John Wiley & Sons, Inc.: 637-677.
- Ryan, M.J. 2001. Anuran Communication. Smithsonian Institution Press, Washington, DC: 252pp.
- Schwartz, J.J. 1987. The function of call alternation in anuran amphibians: a test of three hypotheses. *Evolution* (41): 461-471.
- Schwartz, J.J. & Wells, K.D. 1984. Interspecific acoustic interactions of the neotropical treefrog *Hyla ebraccata*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* (14): 211-224.
- Silva, R.A.; Ross-Feres, D.C. & Marins, I.A. 2008. Bioacústica e sítio de vocalização em taxocenoses de anuros de área aberta no Noroeste Paulista. *Biota Neotrop.* 8(3): 123-134.
- Straneck, R.; Olmedo, E.V. & Carrizo, G.R. 1993. Catalogo de Voces de Anfíbios Argentinos, parte 1. L.O.L.A. (literature of Latin América), Buenos Aires: 131pp.
- Straughan, I.R. & Heyer, W.R. 1976. A functional analysis of the mating calls of the Neotropical frog genera of the *Leptodactylus* complex (Amphibia, Leptodactylidae). *Papéis Avulsos de Zoologia* (29): 221–245.
- Tárano, Z & Guyer, C. 2001. Variation in Male Advertisement Calls in the Neotropical Frog *Physalaemus enesefae*. *Copeia* (4): 1064-1072.

- Vielliard, J. 1983. Catálogo sonográfico dos cantos e piados dos beija-flores do Brasil, 1. Bol. Museu de Biologia "Mello Leitão", Série Biologia (58): 1-20.
- Vielliard, J. 1987. Uso da bioacústica na observação das aves. II Encontro Nac. Anilhad. Aves, Rio de Janeiro: 98-121.
- Walkowiak, W. 1988. Central temporal encoding. In: The evolution of the amphibian auditory system. Fritzsche, B.; Ryan, M.J.; Wilczynski, W.; Hetherington, T.E. & Walkowiak, W. (Eds.) New York: John Wiley: 275-294.
- Weber, L.N.; Gonzaga, L.P. & Carvalho-e-Silva, S.P. 2005. A new species of *Physalaemus* Fitzinger, 1826 from the lowland atlantic Forest of Rio de Janeiro State, Brazil (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). Arquivos do Museu Nacional 63(4): 677-684.
- Wells, K.D. 1977. The social behaviour of anuran amphibians. Anim. Behav. 25: 666-693.
- Wells, K.D. 1988. The effects of social interactions on anuran vocal behavior. In: The evolution of the amphibian auditory system. Fritzsche B, Wilczynski W.; Ryan M.J.; Hetherington T.; Walkowiak, W. (Eds.). Wiley, New York: 433-454.
- Wells, K.D. 2007. The ecology and behavior of amphibians. The University of Chicago Press, Chicago, USA: 1148pp.
- Wenzel, J.W. 1992. Behavioral homology and phylogeny. A. Rev. Ecol. Syst. (23): 261-281.
- Wilczynski, W., Rand, S.A. & Ryan, M.J. 2001. Evolution of Calls and Auditory Tuning in the *Physalaemus pustulosus* Species Group. Brain Behavior and Evolution (58): 137-151.
- Zakon, H.H. & Wilczynski, W. 1988. The physiology of the anuran eighth nerve. In: The evolution of the amphibian auditory system. Fritzsche, B.; Ryan, M.J.;

Wilczynski, W.; Hetherington, T.E. & Walkowiak, W. (Eds.) New York: John Wiley: 125-155.

Zar, J.H. 1999. Biostatistical analysis. Prentice-Hall, New Jersey: 942pp.



## Figuras

Tabela I – Arquivos sonoros, localidades de obtenção dos registros e pesquisadores que cederam os registros de: *P. alb* – *P. albonotatus*, *P. cen* – *P. centralis*, *P. cic* – *P. cicada*, *P. cuq* – *P. cuqui*, *P. cuv* – *P. cuvieri*, *P. eph* – *P. ephippifer*, *P. eri* – *P. erikae*, *P. fis* – *P. fischeri* e *P. kro* – *P. kroyeri*.

	Pesquisador	Arquivos	Localidades
P. alb	André Pansonato	12A-02	Miranda – MS
		26A-03	Corumbá – MS
		43A-14	Vale de São Domingos – MT
		49A-03	Caceres – MT
		Pir05-05	N. S. Livramento – MT
P. cen	André Pansonato	04A-08	N. S. Livramento – MT
	Bruno Pimenta	LH115/194/293	N. S. Livramento – MT
		Dat 5-34/5-40	Itumirim – MG
Rodrigo Silva	Dat 4-26/4-28	Lagoa Santa – MG	
P. cic	Marcelo Napoli	P. centralis 3/4/5	Icém – SP
	Jorge Jim	PABA	Paulo Afonso – BA
P. cuq	Diego Baldo	P. cicada 1/1a/1b	Jequié – A
P. cuv	André Pansonato	Sound 13/P.cuq	Gobernador Virasoro, Argentina
P. cuv	André Pansonato	41A-12/42A-03/42A-05	Nova Lacerda – MT
		03B-08/15A-07/16A-01	Chapada dos Guimarães – MT
		16A-06/16A-07/21A-03	Chapada dos Guimarães – MT
	Bruno Pimenta	dat 4-34	Lagoa Santa – MG
		dat 5-36	Itumirim – MG
		dat 5-30	Perdões – MG
	Adrian Garda	ASUFRN049	Macaíba – RN
Célio Haddad	ASUFRN014	Loreto – RN	
	CH-7	Ribeirão Branco – SP	
P. eph	Michel Ryan	P. cv12	Ribeirão Branco – SP
P. eri	Bruno Pimenta	Track 9/10/11/12/13/14/15/16/18	Macumbe Reserve
P. fis	Zaida Tárano	P. grcuv/3/4/5/6/7	Porto Seguro – BA
P. kro	Marcelo Napoli	male 105/106/110/152/152b	Calabozo, Venezuela
		P. aff kroyeri/ Explosão 2/ Explosão 3	Barreiras – BA

Tabela II. Parâmetros do canto de anúncio, (E) parâmetros espectrais e (T) parâmetros temporais, são apresentados na tabela a seguir:

<b>Parâmetros espectrais (kHz – quilohertz)</b>	<b>Parâmetros temporais (ms – milissegundo)</b>
(E) – frequência mínima (FMa) – a menor frequência do canto (kHz).	(T) – taxa de repetição das notas (TR) – número de notas emitidas por minuto.
(E) – frequência máxima (FMi) – a maior frequência do canto (kHz).	(T) – duração das notas*/canto (DN) – tempo entre o início e final da nota. Nota é a menor unidade temporal sonora que constitui o canto (ms).
(E) – frequência dominante (FD) – a frequência com a maior energia do canto (kHz).	(T) – intervalo entre as notas*/canto (IN) – hiato entre duas notas (ms).
(E) – uma nota ou mais de uma nota*.	(T) – duração dos pulsos (DP) – tempo de duração de um pulso (ms).
(E) – com ou sem harmônicos – harmônicos são bandas de frequência cujos valores são múltiplos e inteiros da frequência. Fundamental	(T) – número de pulsos (NP) – Subunidade da nota, o pulso é uma repetição de estímulos energéticos, idênticos e de curta duração.

\* Foram analisadas a duração do canto e o intervalo entre o canto em cantos formados por uma única nota; foram analisadas a duração da nota e o intervalo entre as notas em cantos formados por mais de uma nota.

**Tabela III** – Médias, desvios padrão, valores mínimo e máximo dos parâmetros acústicos das nove espécies do grupo *Physalaemus* *cuvieri*, *P. alb* – *P. albonotatus*, *P. cen* – *P. centralis*, *P. cic* – *P. cicada*, *P. cuq* – *P. cuqui*, *P. cuv* – *P. cuvieri*, *P. eph* – *P. ephippifer*, *P. eri* – *P. erikae*, *P. fis* – *P. fischeri* e *P. kro* – *P. kroeyeri*. FMI – frequência mínima, FMa – frequência máxima, FD – frequência dominante, EN – estrutura da nota (n/c - número de notas por canto e H - número de harmônicos), DN – duração da nota, IN - intervalo entre notas, DP - duração dos pulsos, NP - número de pulso, TR - taxa de repetição da nota e NC - número de cantos analisados.

	FMI	FMa	FD	EN	DN	IN	DP	NP	TR	NC
<i>P. alb</i>	0,42±0,05 (0,33-0,49)	3,4±0,2 (3,02-3,81)	2,59±0,19 (2,24-3,01)	6H 1 n/c	1,43±0,17 (1,03-1,74)	3,83±2,4 (1,59-11,24)	0,003±0,001 (0,002-0,006)	447,5±53,47 (323-544)	12,29±4,37 (5,38-16,64)	62
<i>P. cen</i>	0,29±0,04 (0,23-0,36)	2,03±0,21 (1,73-2,58)	1,28±0,21 (0,86-1,72)	2H 1 n/c	0,44±0,08 (0,3-0,6)	0,58±0,25 (0,31-1,54)	0,004±0,001 (0,003-0,007)	48,9±12,5 (30-87)	61±6,24 (47,2-70,7)	105
<i>P. cic</i>	1,97±0,09 (1,74-2,14)	4,12±0,65 (3,1-4,89)	3,00±0,52 (2,07-3,62)	4H 255 n/c	0,02±0,004 (0,013-0,03)	0,02±0,004 (0,014-0,035)	0,002±0,001 (0,001-0,005)	6±1,9 (2-11)	1587±237 (1132-1875)	107
<i>P. cuq</i>	0,31±0,04 (0,24-0,39)	3,64±0,25 (3,26-3,97)	2,5±0,13 (2,24-2,58)	3H 1 n/c	1,61±0,34 (1,13-2,43)	3,48±1,2 (1,87-7,12)	0,002±0,0003 (0,002-0,003)	700±150 (490-1054)	12,06±0,32 (11,84-12,29)	26
<i>P. cuv</i>	0,39±0,09 (0,21-0,69)	2,94±0,45 (1,9-4,5)	0,68±0,12 (0,47-0,9)	3-6H 1 n/c	0,31±0,12 (0,18-0,77)	0,9±0,85 (0,22-6,56)	0,002±0,001 (0,001-0,003)	182,15±48,86 (113-299)	64,47±23,57 (13,88-108)	291
<i>P. eph</i>	0,41±0,09 (0,32-0,58)	3,27±0,35 (2,7-3,77)	0,8±0,08 (0,69-0,86)	3-5H 1 n/c	0,27±0,04 (0,19-0,35)	4,92±2,92 (2,16-15,84)	0,003±0,001 (0,001-0,006)	93,58±12,89 (66-121)	13,22±3,46 (9,7-18,51)	53
<i>P. eri</i>	0,31±0,03 (0,25-0,34)	4,3±0,27 (3,95-4,67)	2,77±0,11 (2,58-2,93)	8H 1 n/c	0,59±0,08 (0,51-0,74)	9,17±3,84 (5,04-14,05)	0,002±0,0004 (0,002-0,003)	266,3±15,12 (243-295)	7,23±0,95 (7,13-9,12)	11
<i>P. fis</i>	0,34±0,06 (0,27-0,6)	3,97±0,13 (3,7-4,31)	0,91±0,05 (0,78-1,04)	8H 1 n/c	0,72±0,08 (0,58-1)	0,32±0,14 (0,14-0,66)	0,003±0,001 (0,002-0,006)	230±36 (166-303)	58,85±9,12 (47,3-70)	51
<i>P. kro</i>	0,54±0,05 (0,4-0,69)	3,61±0,2 (3,3-3,97)	2,69±0,17 (2,41-2,93)	3-12H 1 n/c	0,42±0,04 (0,33-0,54)	0,91±0,5 (0,28-1,98)	0,003±0,0005 (0,002-0,005)	142,9±19,71 (97-190)	57,5±12,89 (44,4-79,8)	95

Tabela IV – Análise de variância (ANOVA) dos parâmetros acústicos das nove espécies do grupo *Physalaemus cuvieri*. FMa – frequência máxima, FMi - frequência mínima, FD – frequência dominante, DN – duração da nota, IeN – intervalo entre notas, DP – duração do pulso, NP – número de pulso, TxR – taxa de repetição da nota.

	F	GL(x;y)	P
FMa	296,6	8; 362	0,00
FMi	3427,57	8; 366	0,00
FD	615,83	8; 369	0,00
DN	722,56	8; 376	0,00
IN	75,77	8; 376	0,00
DP	39,94	8; 376	0,00
NP	3507	8; 369	0,00
TR	243,88	8; 65	0,00

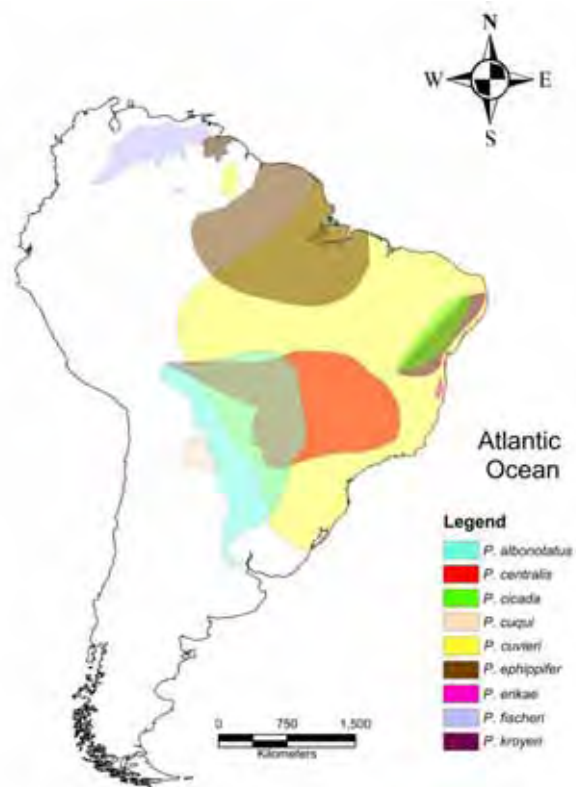
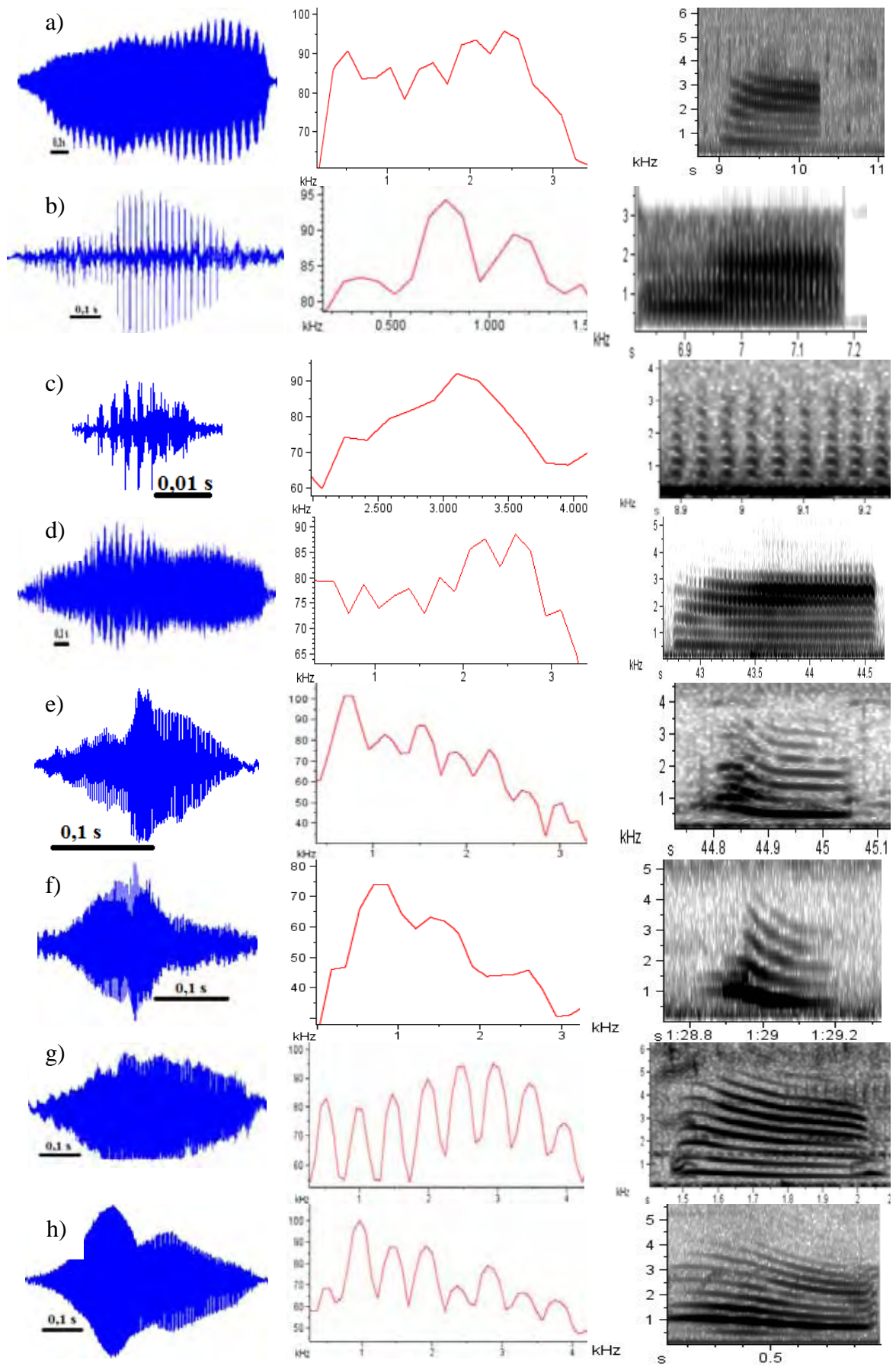


Figura 1 – Mapa da América do Sul com a distribuição de ocorrência das nove espécies do grupo *Physalaemus cuvieri*.  
 Fonte: IUCN Red list website.



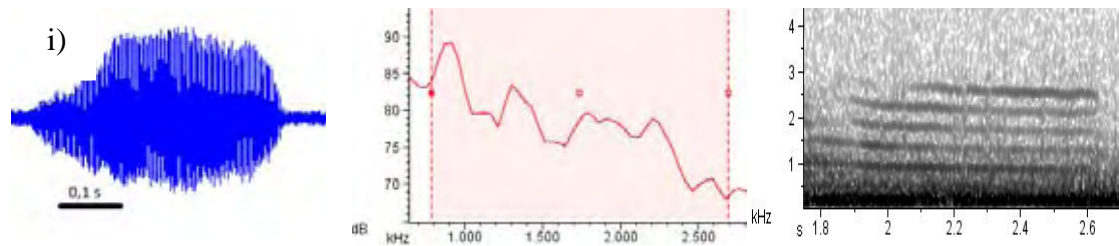
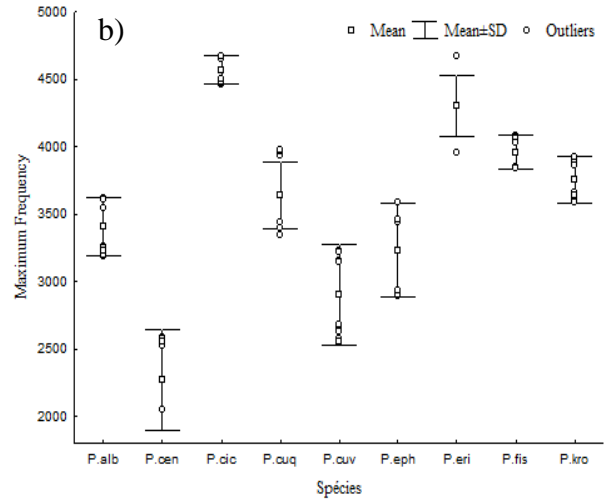
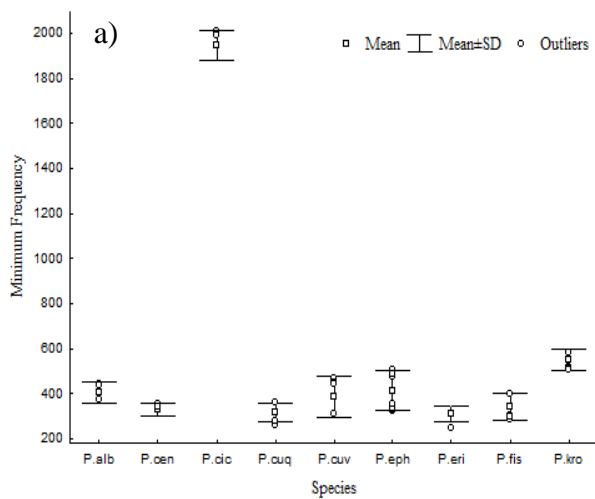


Figura 2 – Sonograma, oscilograma e espectro de potência de uma nota do canto de anúncio de a) *P. albonotatus*, gravado no município de Corumbá, estado do Mato Grosso; b) *P. centralis*, gravado no município de Icém, estado de São Paulo; c) *P. cicada*, gravado no município de Paulo Afonso, estado da Bahia; d) *P. cuqui*, gravado no município de Los Lapachos, Província de Corrientes, Argentina, e) *P. cuvieri* gravado no município de Icém, estado de São Paulo; f) *P. ephippifer* gravado na Reserva da Macumba; g) *P. erikae* gravado no município Porto Seguro, estado da Bahia; h) *P. fischeri* gravado no município Calabozo, estado de Quárico, Venezuela e i) *P. kroyeri*, gravado no município de Barreiras, estado da Bahia.



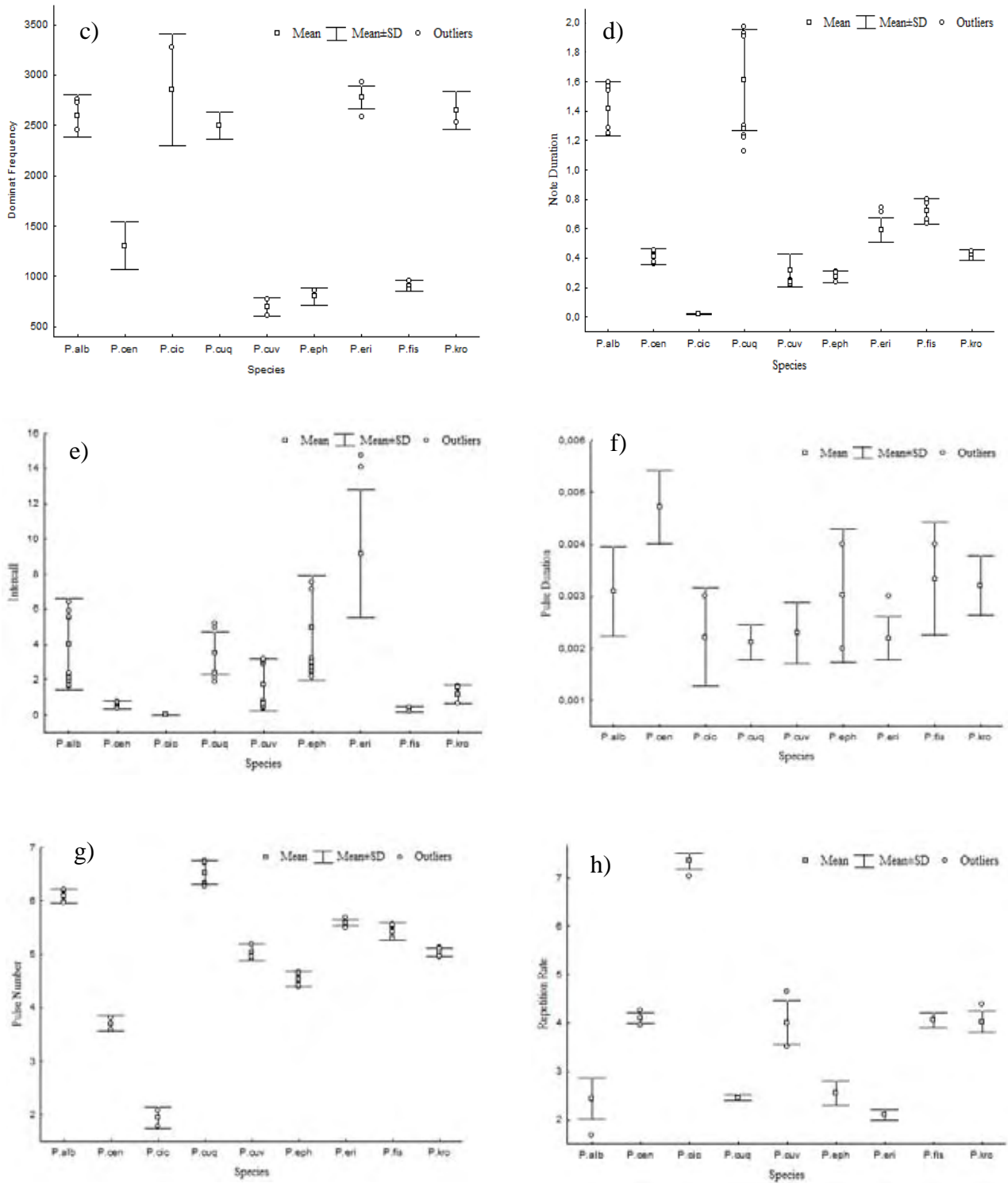


Figura 3 – Variação entre as médias (teste Fischer LSD – Post Hoc) de oito parâmetros acústicos do canto de anúncio de nove espécies do grupo *Physalaemus*: P. alb – *P. albonotatus*, P. cen – *P. centralis*, P. cic – *P. cicada*, P. cuq – *P. cuqui*, P. cuv – *P. cuvieri*, P. eph – *P. ephippifer*, P. eri – *P. erikae*, P. fis – *P. fischeri* e P. kro – *P. kroyeri*. a) Frequência máxima, b) frequência mínima, c) frequência dominante, d) duração da nota, e) intervalo entre as notas, f) duração do pulso, g) número de pulsos, h) taxa de repetição da nota/canto.



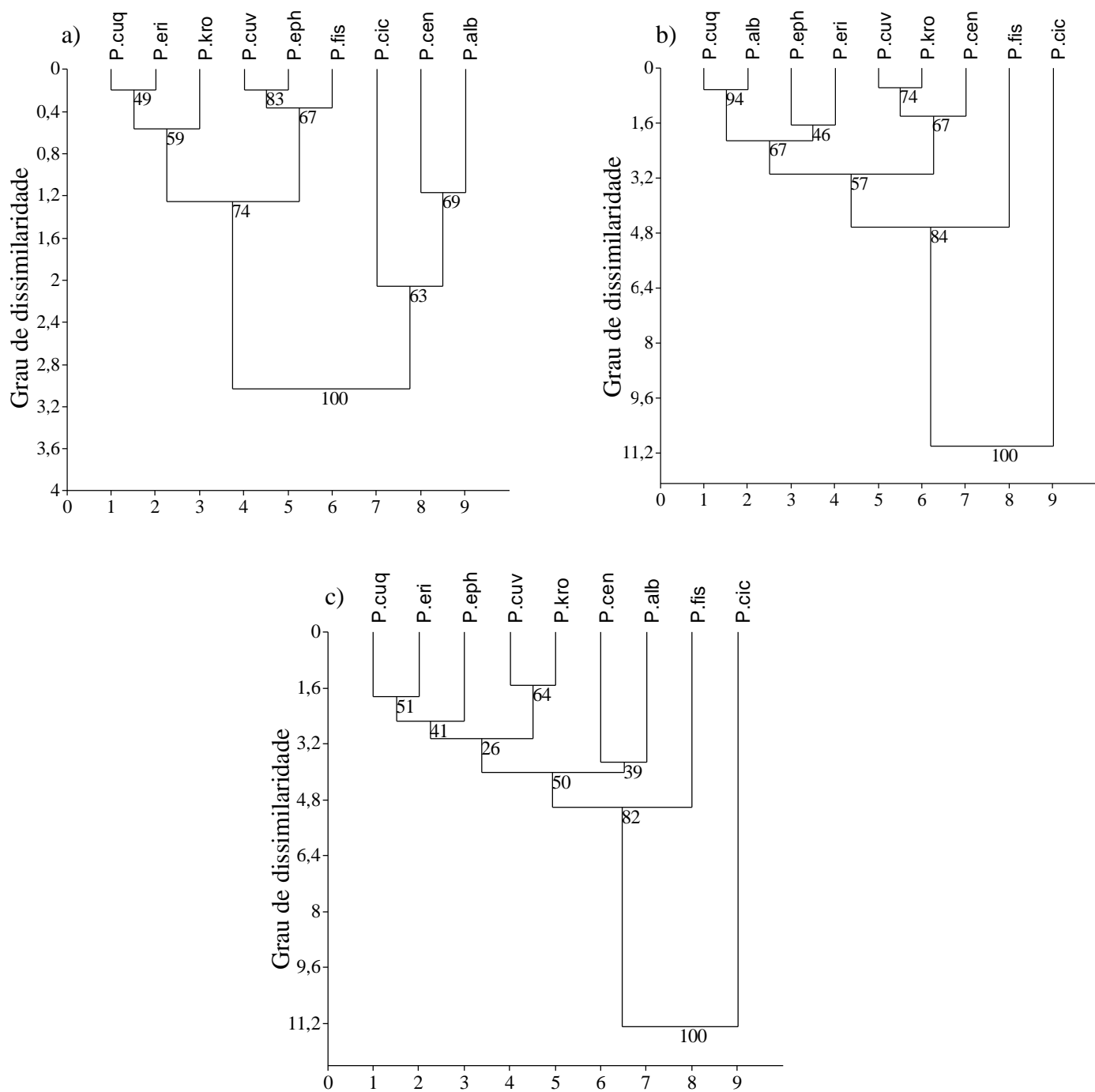


Figura 4 – Similaridade entre os parâmetros a) espectrais, b) temporais e c) espectrais e temporais do canto de anúncio de nove espécies do grupo *Physalaemus*: P. alb – *P. albonotatus*, P. cen – *P. centralis*, P. cic – *P. cicada*, P. cuq – *P. cuqui*, P. cuv – *P. cuvieri*, P. eph – *P. ephippifer*, P. eri – *P. erikae*, P. fis – *P. fischeri* e P. kro – *P. kroyeri*. Bootstrap 1000 replicações.

## Capítulo II

A influência do habitat nos parâmetros bioacústicos de anuros do gênero

*Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae)

Silva, R.A.<sup>1</sup> & Martins, I.A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pós-Graduação em Biologia Animal, UNESP, São José do Rio Preto, São Paulo,

Brasil. 15054-000.

E-mail: [silva7554@yahoo.com.br](mailto:silva7554@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Instituto Básico de Biociências - Laboratório de Zoologia - UNITAU, Taubaté, São

Paulo, Brasil.

E-mail: [istama@uol.com.br](mailto:istama@uol.com.br)

## Resumo

As características físicas do ambiente influenciam a evolução de sinais acústicos a longas distâncias, favorecendo as propriedades que diminuem a atenuação sonora e a fidelidade da informação. Neste trabalho, discutimos a relação entre os parâmetros acústicos e o tipo de hábitat ocupado pelas espécies e, a similaridade entre os cantos de anúncio de 28 espécies distribuídas em três grupos taxonômicos do gênero *Physalaemus* que ocupam áreas abertas e de mata. Os cantos foram caracterizados a partir de dez parâmetros acústicos. Os cantos de anúncio apresentaram diferenças significativas entre os grupos taxonômicos de espécies anuros em oito parâmetros bioacústicos, sendo a frequência mínima e duração da nota bons parâmetros para a segregação dos grupos. Mas não houve diferença significativa entre espécies de área aberta e de ambiente de mata. Houve, sim, uma tendência de espécies de área aberta emitirem cantos em uma faixa de frequência menor que espécies de ambiente de mata, que tiveram maior plasticidade dos valores temporais do canto. A segregação das espécies em táxons por meio dos parâmetros acústicos não corroborou a taxonomia atual morfológica. Mas, a análise de todos os parâmetros do canto mostrou que 61% das espécies foram agrupadas junto a espécies do respectivo grupo. O uso de parâmetros bioacústicos como unidades é conveniente para a comparação em anuros, mas esses parâmetros podem evoluir em diferentes caminhos como parece o caso das espécies do gênero *Physalaemus*. Contudo, parâmetros do canto estereotipados, como as notas simples e harmônicos, são conservativas ou mais similares entre espécies próximas. Assim, determinados parâmetros do canto podem conter um forte sinal filogenético por estarem diretamente relacionados com o reconhecimento específico, assim como também expressar o reflexo das condições ambientais.

Palavras-chave: Canto de anúncio, similaridade, sinais acústicos, grupo *P. cuvieri*, grupo *P. signifer*, grupo *P. olfersii*

## **Abstract**

The physical characteristics of the environment influence the evolution of acoustic signals over long distances, favoring the properties that diminish the sound attenuation and information precision. In this paper, we discuss the relationship between the acoustic parameters and the type of habitat occupied by the species as well as the similarity between the advertisement calls of 28 species ranging from three taxa of the *Physalaemus* genus occupying open areas and forest. The calls were characterized from ten acoustic parameters. The calls presented significant differences between taxa of anurans in eight bioacoustics parameters, given that the minimum frequency and note length are good parameters for group segregation. But there was no significant difference between species in the open areas and the forest area. It was observed a tendency of open areas species to emit calls in a lower frequency range than the forest species which had greater plasticity in calls temporal value. The segregation in species in taxa by means of acoustic parameters did not corroborate the current morphological taxonomy. However, the analysis of all calls parameters showed that 61% of the species were grouped with their respective kin. The use of bioacoustics as units is convenient for anurans comparison but these parameters may evolve in different paths as seems to be the case of genus *Physalaemus*. Stereotyped calls parameters, like simple notes and harmonics, are conservative or have better similarity between close species. Thus, certain calls parameters may contain a strong phylogenetic signal because they are directly related with specific recognition as well as representing the reflex of environmental conditions.

Keywords: advertisement call, similarity, acoustics signals, *P. cuvieri* group, *P. signifer* group, *P. olfersii* group

## **Introdução**

Estudos ecológicos, taxonômicos e sistemáticos, utilizando parâmetros bioacústicos como caracteres comportamentais específicos, fornecem novas e importantes informações para esclarecer as relações entre espécies (Márquez *et al.*, 1993; Heyer *et al.*, 1996; Márquez & Bosch, 1997; Haddad & Pombal, 1998; Hartmann *et al.*, 2002; Martins & Jim, 2003; 2004; Conte *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2011; Bastos *et al.*, 2011). Nos anuros, diferentes sistemas de comunicação são observados, mas o comum é a comunicação acústica (Ryan & Wilczynski, 1991; Duellman & Trueb, 1994; Gerhardt 1994). Mas, na região Neotropical, relações entre táxons são particularmente complexas e, o canto de anúncio (*sensu* Wells, 1977), que desempenha um papel crucial no reconhecimento de espécies de anuros e escolha de parceiros (Littlejohn & Loftus-Hills, 1968; Bastos *et al.*, 2011), é um importante parâmetro alternativo taxonômico já que determina diferenças e semelhanças fenéticas entre os grupos (Márquez & Bosch, 1997). Mas o canto pode incorrer em custos energéticos significativos (Ryan, 1988; Cocroft & Ryan, 1995), sendo que a otimização e a eficácia dos sinais bioacústicos são cruciais para sua transmissão. No entanto, o ambiente pode afetar as propriedades de sinais bioacústicos, como a amplitude e a fidelidade de um canto de tal forma que ele pode degradar a eficácia do sinal e torná-lo irreconhecível para o receptor (Gerhardt, 1994). Características físicas do ambiente influenciam a evolução de sinais acústicos a longas distâncias, favorecendo as propriedades que diminuem a atenuação sonora e a fidelidade da informação (Zimmermann, 1983). Morton (1975) foi o primeiro a formular a hipótese de adaptação acústica, que afirma que as frequências dominantes e outras propriedades de cantos são otimizadas para aqueles valores com menor atenuação do som pelo ambiente físico do indivíduo emissor. Assim, tipos de habitats diferentes terão bandas ideais de frequência diferentes. Portanto, de acordo com a hipótese de

"seleção ambiental", diferenças nas características do habitat que afetam propriedades acústicas diferenciais podem resultar em variação interespecífica dos cantos. Uma abordagem comparativa do canto em grupos filogeneticamente relacionados é necessária (Bosch & De La Riva, 2004), sendo a detecção de diferenças entre os táxons devido a essa seleção divergente (Zimmermann, 1983; Wiley, 1981).

Os Leptodactylidae do gênero *Physalaemus*, 45 espécies (Frost, 2012), estão distribuídos em sete grupos: *P. albifrons*, *P. cuvieri*, *P. deimaticus*, *P. gracilis*, *P. henselii*, *P. olfersii* e *P. signifer* (sensu Nascimento *et al.*, 2005). O grupo *P. cuvieri* é formado pelas espécies: *P. albonotatus* (Steindachner, 1864), *P. centralis* Bokermann, 1962, *P. cicada* Bokermann, 1966, *P. cuqui* Lobo, 1993, *P. cuvieri* Fitzinger, 1826, *P. ephippifer* (Steindachner, 1864), *P. erikae* Cruz & Pimenta, 2004, *P. fischeri* (Boulenger, 1890) e *P. kroyeri* (Reinhardt & Lütken, 1862). Este grupo ocupa áreas de formação abertas como poças permanentes, poças temporárias em ambientes de pastagens e antrópicos (Frost, 2012). É um grupo amplamente distribuído desde o Sul ao norte da América do Sul, no leste da Cordilheira dos Andes da Argentina a Venezuela, no Cerrado aberto, Caatinga, Chaco e domínios de Llanos (Nascimento *et al.*, 2005).

As espécies alocadas no grupo *P. signifer* são: *P. atlanticus* Haddad & Sazima, 2004, *P. bokermanni* Cardoso & Haddad, 1985, *P. caeté* Pombal & Madureira, 1997, *P. crombiei* Heyer & Wolf, 1989, *P. irroratus* Cruz, Nascimento & Feio, 2007 *P. maculiventris* (Lutz, 1925), *P. moreirae* (Miranda-Ribeiro, 1937), *P. nanus* (Boulenger, 1888), *P. obtectus* Bokermann, 1966, *P. signifer* (Girard, 1853) e *P. spiniger* (Miranda-Ribeiro, 1926) (sensu, Nascimento *et al.*, 2005). Este grupo é distribuído ao longo do domínio de Mata Atlântica (sensu Ab'Saber, 1977), do estado de Alagoas, no nordeste do Brasil e Rio Grande do Sul, no sul do Brasil.



O grupo *P. olfersii*, reconhecido atualmente (Cassini *et al.*, 2010), é composto por oito espécies: *P. aguirrei* Bokermann, 1966, *P. insperatus* Cruz, Cassini & Caramaschi, 2008, *P. soaresi* Izecksohn, 1965, *P. maximus* Feio, Pombal & Caramaschi, 1999, *P. olfersii* (Lichtenstein & Martens, 1856), *P. lateristriga* (Steindachner, 1864), *P. feioi* Cassini, Cruz & Caramaschi, 2010 e *P. orophilus* Cassini, Cruz & Caramaschi, 2010. Ocorrem no Domínio de Mata Atlântica (sensu Ab'Saber, 1977), do estado da Bahia a Santa Catarina, Brasil (Frost, 2012).

O gênero *Physalaemus* é formado por espécies crípticas com acentuada sobreposição na morfologia interespecífica. O processo de especiação, assim, não é sempre acompanhado por alterações morfológicas. Portanto, a identificação das espécies baseada exclusivamente nas características morfológicas não é confiável (Barrio, 1965) e o verdadeiro número de espécies biológicas pode ser subestimado quando a determinação das espécies é baseada puramente por traços morfológicos (Bickford *et al.*, 2007).

Neste trabalho descrevemos e comparamos as características dos cantos de anúncio de 28 espécies do gênero *Physalaemus*, respondendo as seguintes questões: I) há diferenças nos parâmetros bioacústicos em espécies intragenéricas que ocorrem em habitats diferentes (área aberta e mata)? II) Qual o grau de similaridade do canto de anúncio entre as espécies congênicas crípticas? III) A atual distribuição fenotípica do grupo é corroborada pelos parâmetros do canto? Assim, a interpretação e a determinação dos parâmetros acústicos dos sinais bioacústicos podem fornecer comparações para uso em estudos das vocalizações de anuros (Robillard *et al.*, 2006).

## Metodologia

Foram analisados os cantos de anúncio de 28 (93%) espécies de três grupos taxonômicos, *P. cuvieri*, *P. signifer* e *P. olfersii*, correspondendo a 62% dos anuros do gênero *Physalaemus*. Apenas cantos de *P. caeté* (grupo *P. signifer*) e *P. insperatus* (grupo *P. olfersii*) não foram incluídos na amostra, devido à ausência de gravações em coleções e não obtenção de gravações nas localidades tipo.

Os resultados das análises bioacústicas das espécies do grupo *P. cuvieri* foram agrupados para fins de caracterizar o canto de espécies que ocupam área aberta. As análises dos cantos dos grupos *P. olfersii* e *P. signifer* também foram agrupadas caracterizando as espécies que ocupam área de mata (Fig. 1). Os cantos foram analisados com base em dez parâmetros acústicos: número de notas no canto, presença ou não de harmônicos, frequências máxima, mínima e dominante, duração da nota, intervalo entre as notas, número e duração dos pulsos além da taxa da repetição da nota (ou taxa de repetição do canto quando o canto apresentar uma nota), adaptados de Duellman (1970), Wells (1977; 1988), Duellman & Pyles (1983), Ryan (1985), Duellman & Trueb (1994), Schwartz (1987), Cocroft & Ryan (1995), Gerhardt (1998) e Ryan (2001).

Os cantos analisados foram cedidos por diferentes pesquisadores (Dr. Carlos Eduardo Conte, Dr. Adrian Garda, Msc. André Pansonato, Dr. Bruno V. S. Pimenta, Msc. Carla Santana Cassini, Dr. Célio F. B. Haddad, Dr. Rogério P. Bastos, Dra. Flora Acuna Juncá, Dr. Rodrigo Lingnau, Dra. Luciana Barreto Nascimento, Dr. Michel Ryan, Dr. Marcelo Filgueiras Napoli, Dr. José Pombal Jr, Dr. Sérgio Potch Carvalho-e-Silva, Dr. Zaida Tárano, Dr. Raul Manyero e Dr. Daniel Loebmann). Gravações da coleção sonora I. A. Martins. Todas as espécies com cantos analisados no presente estudo foram comparadas com informações disponíveis na literatura (Bokermann 1966;

Heyer *et al.*, 1990; Straneck *et al.*, 1993; Ferrari & Vaira 2001; Tárano, 2001; Cruz *et al.*, 2004; Weber *et al.*, 2005; Cruz *et al.*, 2007; Cassini *et al.*, 2010; Kaefer *et al.*, 2011).

Os cantos foram digitalizados e analisados no programa computacional Raven Pro 1.3 (Cornell Bioacoustics Research Program Program – sob licença do Laboratório de Herpetologia do Depto. Zoologia, IB, Unesp Rio Claro) com uma frequência de amostragem de 44.1 kHz, 16 bit de resolução e canal mono. Foi utilizado filtro de 256 bandas e, quando necessário, a opção de 1024 bandas. O sonograma foi analisado com 50% de brilho e 50% de contraste.

Foram registrados as médias e desvios padrão de cada um dos 10 parâmetros bioacústicos, assim como os valores mínimos e máximos utilizados para a descrição dos cantos de anúncio das 28 espécies.

Para determinar se houve diferença entre o canto de espécies de área aberta (espécies do grupo *P. cuvieri* conjuntamente) e de mata (espécies dos grupos *P. signifer* e *P. olfersii* conjuntamente) foram investigados oito parâmetros bioacústicos, sendo utilizada a análise de variância (ANOVA) com níveis de significâncias  $p < 0,05$  (Zar, 1999), e posteriormente confeccionados gráficos Box-Plot para cada parâmetro bioacústico. Foram analisadas a frequência mínima, máxima e dominante além da duração da nota e intervalo entre as notas, duração e número de pulsos e a taxa de repetição da nota. Os dados foram logaritmizados (Ln) para a adequação das premissas do teste.

O grau de similaridade do canto de anúncio entre espécies de área aberta e de mata foi determinado por meio do método de distância euclidiana, medida de dissimilaridade, para os dados de estrutura da nota (quantidade de notas por canto e presença de harmônicos), para as frequências máxima, mínima e dominante

conjuntamente, para os parâmetros temporais conjuntamente, para a duração da nota e intervalo entre as notas, para a duração e número de pulsos e para todos os parâmetros temporais, espectrais e dados da estrutura da nota conjuntamente. Também foi aplicada a análise de *bootstrap* para definir os agrupamentos válidos. As análises foram realizadas em programa computacional utilizando o método de média não ponderada para construção do dendrograma (Krebs, 1999). Os dados foram padronizados. Para as análises de similaridade não foi usada a taxa de repetição da nota por insuficiência de número amostral.

Os gráficos Box-plot foram construídos com todas as espécies para demonstrar as variações dos valores da frequência dominante, duração da nota, intervalo entre as notas, número de pulsos, duração dos pulsos e da taxa de repetição das notas separadamente.

## Resultados

As análises dos cantos de anúncio (Tab. I) apresentaram diferenças significativas entre os três grupos estudados nos oito parâmetros bioacústicos: frequências mínima ( $F_{(2; 1066)} = 191,6$ ;  $p = 0,00$ ), máxima ( $F_{(2; 1062)} = 184,4$ ;  $p = 0,00$ ), e dominante ( $F_{(2; 1065)} = 26,9$ ;  $p = 0,00$ ), duração da nota ( $F_{(2; 1006)} = 74,23$ ;  $p = 0,00$ ), intervalo entre as notas ( $F_{(2; 1048)} = 15,94$ ;  $p = 0,00$ ), número de pulsos ( $F_{(2; 982)} = 88,63$ ;  $p = 0,00$ ), duração dos pulsos ( $F_{(2; 1006)} = 73,52$ ;  $p = 0,00$ ) e taxa de repetição ( $F_{(2; 151)} = 5,18$ ;  $p = 0,01$ ) (Fig. 2). Os cantos das espécies do grupo *P. cuvieri* não apresentaram diferenças do grupo *P. signifer* nos parâmetros: frequência dominante ( $p = 0,69$ ) e taxa de repetição da nota ( $p = 0,24$ ) e; do grupo *P. olfersii* nos parâmetros: frequência máxima ( $p = 0,12$ ), intervalo entre as notas ( $p = 0,27$ ) e duração dos pulsos ( $p = 0,051$ ). Todos os parâmetros dos cantos do grupo *P. olfersii* e *P. signifer* foram significativamente diferentes. Os

parâmetros frequência mínima e duração da nota segregaram os três grupos de espécies estudados (Fig. 2).

A estrutura da nota (número de notas no canto e presença de harmônicos) dispôs as espécies em quatro agrupamentos: I) *P. albonotatus*, *P. centralis*, *P. cuqui*, *P. cuvieri*, *P. ephippifer*, *P. erikae*, *P. fischeri*, *P. kroyeri*, *P. crombiei*, *P. signifer*, *P. spiniger*, *P. maximus* e *P. aguirrei* (Fig. 3) emitindo canto formado por uma nota com harmônico, sendo aproximadamente 67% dessas espécies de área aberta (93% do total das espécies de área aberta do grupo *P. cuvieri*); II) *P. angrensis*, *P. atlanticus*, *P. camacan*, *P. maculiventris*, *P. moreirae*, *P. lateristriga*, *P. olfersii* e *P. soaresi* com canto formado por uma nota sem harmônico, agrupamento com 100% de espécies de mata (42% do total das espécies estudadas de área mata); III) *P. bokermanni*, *P. orophilus*, *P. irroratus*, *P. feioi* e *P. obtectus*, também formado 100% por de espécies de mata (26% do total das espécies estudadas de área de mata) com cantos formados por mais de uma nota e sem a presença de harmônico e IV) *P. cicada* e *P. nanus*, espécies que ocorrem em áreas diferentes (área aberta e floresta, respectivamente) com canto formado por mais de uma nota com a presença de harmônico (Fig. 3).

A similaridade dos cantos em relação aos parâmetros espectrais (frequências máxima, mínima e dominante) forma um agrupamento que emitem cantos de 0,29 a 4,67 kHz de frequência (faixa de frequência mais baixa), separados em dois grupos (Fig. 4, 5a): I) *P. albonotatus*, *P. kroyeri*, *P. cuqui*, *P. erikae* e *P. aguirrei* com frequência dominante entre 2,5 e 3,07 kHz (frequência dominante alta) (Fig. 5b) e II) *P. centralis*, *P. moreirae*, *P. cuvieri*, *P. ephippifer* e *P. fischeri* com frequência dominante entre 0,68 e 2,03 kHz (frequência dominante baixa) (Fig. 5b). Outro agrupamento emite canto com frequências entre 0,59 a 5,04 kHz (faixa de frequência mais alta), separado também em dois grupos (Fig. 4, 5a), um formado por aproximadamente 85% das espécies de mata:

III) *P. angrensis*, *P. atlanticus*, *P. crombiei*, *P. maculiventris*, *P. camacan*, *P. obtectus*, *P. signifer*, *P. maximus*, *P. nanus*, *P. spiniger*, *P. lateristriga*, *P. irroratus* e *P. olfersii* com frequência dominante entre 0,75 e 2 kHz (frequência dominante baixa), (Fig. 5b) e IV) *P. orophilus*, *P. cicada*, *P. soaresi*, *P. bokermanni* e *P. feioi* com frequência dominante entre 2,48 e 3,31 kHz (frequência dominante alta) (Fig. 5b). Cerca de 90% das espécies do grupo *P. cuvieri* apresentaram faixa de frequência mais baixa. O grupo *P. signifer* apresentou cerca de 85% das espécies com faixa de frequência mais alta do canto. O grupo *P. olfersii* emitiu cantos com faixa de frequência alta. A frequência dominante baixa do canto agrupou cerca de 65% das espécies (85% do grupo *P. signifer*), as demais espécies (35%) emitiram cantos com frequência dominante alta.

A similaridade entre a duração da nota e o intervalo entre as notas agruparam as espécies em (Fig. 6): I) *P. maximus*, *P. olfersii*, *P. lateristriga*, *P. cuqui*, *P. albonotatus* e *P. soaresi* apresentando notas com duração de 1,4 a 3,32 segundos (notas longas) (Fig. 7a); II) *P. erikae*, *P. spiniger*, *P. nanus*, *P. maculiventris* e *P. ephippifer* com duração de nota de 0,2 a 0,59 segundos (notas com duração intermediárias), ambos os agrupamentos com intervalo entre as notas de 1,7 a 9,17 segundos (intervalo longo entre as notas) (Fig. 7b); III) *P. obtectus*, *P. irroratus*, *P. bokermanni*, *P. orophilus*, *P. feioi* e *P. cicada* com duração das notas de 0,01 a 0,3 segundos (notas de curta duração); IV) *P. kroyeri*, *P. aguirrei*, *P. cuvieri*, *P. fischeri*, *P. camacan*, *P. atlanticus*, *P. signifer*, *P. moreirae*, *P. angrensis*, *P. crombiei*, *P. centralis* com duração da nota de 0,3 a 0,91 segundos (notas de duração intermediária) (Fig. 7a). Ambos os agrupamentos com intervalo entre as notas de 0,03 a 1 segundo (intervalo curto entre as notas) (Fig. 7b). (Fig. 6). Cerca de 85% das espécies do grupo *P. signifer* emitiram notas com intervalo curto entre elas, com notas curtas ou de duração intermediária. Cerca de 60% do grupo *P. olfersii* emitiu cantos com notas longas e com longo intervalo entre as notas. No

grupo *P. cuvieri*, cerca de 60% das espécies emitiram notas com duração intermediária e curto intervalo entre as notas.

Analisando a duração dos pulsos e número de pulsos da nota, as espécies foram dispostas em quatro agrupamentos (Fig. 8): I) *P. orophilus*, *P. irroratus*, *P. feioi*, *P. obtectus*, *P. cicada* e *P. bokermanni*, com 9 até 21 pulsos por nota (pequeno número de pulsos); II) *P. centralis*, *P. ephippifer*, *P. spiniger*, *P. cuvieri*, *P. aguirrei*, *P. erikae*, *P. fischeri*, *P. kroyeri*, *P. signifer* e *P. camacan*, com 49 a 267 pulsos por nota (número intermediário de pulsos); III) *P. cuqui*, *P. maximus*, *P. albonotatus*, *P. lateristriga* e *P. olfersii*, com 387 a 712 pulsos por nota (grande número de pulsos) (Tab. I e fig. 9b). Esses três agrupamentos apresentam duração dos pulsos com 0,002 até 0,005 segundos (pulsos curtos) (Fig. 9a). As espécies com duração dos pulsos de 0,005 a 0,2 segundos (pulsos longos) formaram o último agrupamento (Fig. 8): IV) *P. angrensis*, *P. moreirae*, *P. maculiventris*, *P. crombiei* e *P. nanus* com 8 a 29 pulsos por nota (baixo número de pulsos) (Fig. 9b). As espécies *P. atlanticus* e *P. soaresi* não entraram em nenhum agrupamento, emitindo canto com a duração dos pulsos de 0,12 a 0,001 segundos e número de pulsos de 81 e 1390 por nota, respectivamente (Fig. 8). Em 100% das espécies do grupo *P. olfersii* os pulsos foram curtos e o número de pulsos por nota foi alto ou intermediário. O grupo *P. signifer* emitiu notas com pulsos longos e baixo número de pulsos por nota (42% das espécies do grupo). As demais espécies do grupo (58%) apresentam notas com pulsos curtos e número de pulsos baixo a intermediário. Em 100% das espécies do grupo *P. cuvieri* emitiram notas com pulsos curtos e cerca de 70% com número intermediário de pulsos por nota.

Os agrupamentos formados pela análise da estrutura da nota e dos parâmetros espectrais e temporais conjuntamente (Fig. 10) foram: I) *P. soaresi*, *P. lateristriga*, *P. olfersii*, *P. maximus*, *P. albonotatus*, *P. cuqui* e *P. erikae* apresentaram canto com faixa

de frequência entre 0,31 a 4,3 kHz e frequência dominante entre 0,75 a 2,77 kHz, notas com duração de 1,4 a 3,32 segundos e intervalo entre as notas de 2,28 a 9,17 segundos, com 266 a 1390 pulsos cada nota com 0,001 até 0,005 segundos de duração cada pulso;

II) *P. centralis*, *P. cuvieri*, *P. aguirrei*, *P. kroyeri*, *P. fischeri*, *P. camacan*, *P. signifer*, *P. ephippifer*, *P. spiniger* e *P. maculiventris*, canto com faixa de frequência entre 0,29 e 4,67 kHz e frequência dominante entre 0,68 e 3,07 kHz, notas com duração de 0,23 a 0,72 segundos e intervalo entre as notas de 0,32 a 4,92 segundos, com 49 a 267 pulsos cada nota com 0,002 até 0,006 segundos de duração cada pulso;

III) *P. angrensis*, *P. moreirae*, *P. crombiei*, *P. nanus* e *P. atlanticus*, apresentaram canto com faixa de frequência entre 0,42 a 3,28 kHz e frequência dominante entre 1,12 a 1,93 kHz, com duração da nota de 0,2 a 0,91 segundos e intervalo entre as notas de 0,46 a 2,35 segundos, com 8 a 81 pulsos por nota e duração dos pulsos de 0,005 a 0,2 segundos;

IV) *P. orophilus*, *P. cicada*, *P. bokermanni*, *P. irroratus*, *P. feioi* e *P. obtectus* com faixa de frequência entre 1,02 a 5,04 kHz e frequência dominante entre 1,21 a 3,31 kHz, com duração da nota de 0,01 a 0,05 segundos e intervalo entre as notas de 0,02 a 0,2 segundos com 9 a 21 pulsos por nota e duração de 0,002 a 0,005 segundos (Fig. 10). O agrupamento I reúne cerca de 60% das espécies do grupo *P. olfersii*. O agrupamento II reúne 60% das espécies do grupo *P. cuvieri* e o agrupamento III reúne cerca de 45% das espécies do grupo *P. signifer*. Alguns pares de espécies tiveram cantos similares: *P. feioi* e *P. orophilus*, *P. camacan* e *P. signifer*, *P. angrensis* e *P. moreirae*, *P. albonotatus* e *P. cuqui*, *P. lateristriga* e *P. olfersii*. Todos esses pares são formados por espécies do mesmo grupo taxonômico, sendo que apenas *P. kroyeri* e *P. aguirrei* formam pares de grupos distintos (grupo *P. cuvieri* e *P. olfersii*, respectivamente).



## Discussão

As espécies do grupo *P. cuvieri* têm ampla distribuição em ambientes abertos e antropofizados, sendo que algumas espécies ocupam também áreas de mata como *P. fischeri* e *P. ephippifer* (Floresta Amazônica) e *P. cuvieri* (Mata atlântica). Já os grupos *P. olfersii* e *P. signifer* são espécies exclusivas de ambiente de mata (Mata Atlântica) (Frost, 2012).

Na análise da influência do habitat nos parâmetros bioacústicos do canto de anúncio, nossos resultados mostram uma maior diferença do canto entre os dois grupos com espécies de ambiente de mata e, maior semelhança entre os cantos do grupo com espécies de área aberta e os grupos com espécies de ambiente de mata. Os parâmetros bioacústicos do canto de anúncio das espécies do gênero *Physalaemus*, individualmente, não sofrem influência do tipo de habitat ocupado pelas espécies. O comportamento reprodutivo, característico do grupo, pode influenciar os parâmetros bioacústicos do canto nessas espécies ao minimizar os possíveis efeitos ambientais. Os cantos de espécies com reprodução explosiva podem ser mais adaptados a determinadas condições ambientais, respondendo somente a curtas variáveis climáticas restritas ao período reprodutivo (Ossen & Wassersug, 2002).

Mas, apesar da falta de correlação entre os parâmetros bioacústicos e os habitats, as espécies de área aberta emitem canto de anúncio em uma faixa de frequência mais baixa, com duração de nota intermediária e curto intervalo entre as notas em relação aos cantos de espécies de ambiente de mata. Ainda, a nota apresenta número intermediário de pulsos, sempre de curta duração. A plasticidade nos valores dos parâmetros bioacústicos é encontrada nos cantos de anúncio das espécies de ambiente de mata. Estes emitem cantos de anúncio em uma faixa de frequência mais alta, com notas e pulsos de curta e longa duração e maior intervalo entre as notas.

Para o sucesso reprodutivo da maioria dos anuros os sons por eles emitidos necessitam sobressair em um ambiente sonoro bastante diversificado (Duellman & Pyles, 1983; Cardoso & Martins, 1987). A recepção dos sinais acústicos é afetada pelas características físicas do habitat e pela interferência de espécies sintópicas e sincrônicas (Duellman & Pyles, 1983). Passmore (1981) demonstrou que as vocalizações com frequências abaixo de 4,0 kHz apresentam uma melhor transmissão, tendo um alcance a distâncias mais longas. Segundo Duellman & Pyles (1983), frequências abaixo de 4,0 kHz são mais efetivas na comunicação dos anuros em ambientes complexos. Sons de frequências altas, acima de 4,5 kHz, são menos favorecidos para sua propagação a distância (Gerhardt, 1994). Nos *Physalaemus*, os cantos de frequência mais baixa podem sim auxiliar a propagação do som a longas distâncias, mas, em espécies de ambiente menos complexo (área aberta).

Dois aspectos do canal de comunicação sonora podem influenciar a estrutura temporal de um sinal no receptor. Primeiro, um sinal de propagação pode atingir o receptor através de vários caminhos, devido à reflexão, reverberação e espalhamento das ondas sonoras a partir de objetos no ambiente ou do vento e da turbulência atmosférica (Richards & Wiley, 1982). Quanto maior for a "desordem do habitat", maior é o efeito sobre a estrutura temporal de um sinal no receptor. Em segundo lugar, os sinais de diferentes animais (membros da mesma espécie e heterospecíficos) podem chegar ao mesmo tempo ao receptor. Quanto maior for a "desordem de sinal", maior é o efeito sobre a estrutura temporal do sinal receptor (Romer & Lewald, 1992; Forrest 1994). Assim, essa hipótese que "desordem do habitat" gera "desordem de sinal" pode nos auxiliar no entendimento da plasticidade nos parâmetros bioacústicos encontrada nos cantos de anúncio das espécies de ambiente de mata. Esses efeitos ambientais levam a uma previsão sobre a codificação do sinal ideal em diferentes habitats, com baixa

frequência na taxa de pulso prevalente em florestas e frequência alta da taxa de pulso em áreas abertas (Ryan, 1988).

Desde os primeiros trabalhos de Morton (1975), estudos apontam a dependência da frequência de propagação em ambientes específicos. Os sinais dos anuros podem ser caracterizados pela sua frequência e, geralmente estão confinados a uma região particular ou espectral do canal de comunicação (Littlejohn 1977; Martins & Jim 2003; 2004; Silva *et al.*, 2008). O ruído, a absorção da frequência pelo meio e a filtragem causados pelo ambiente podem afetar as características espectrais da comunicação (Forrest, 1994). Os ambientes agem como filtros, pois certas frequências propagam melhor do que outras em determinados tipos de habitats, como é apresentado em nosso estudo para as espécies de *Physalaemus*. Estas faixas de frequências têm sido chamadas de "canais acústicos" (Martins, *et al.*, 2006).

Os cantos de anúncio dos *Physalaemus* estudados são constituídos por quatro tipos de estruturas: nota simples com ou sem estrutura harmônica e, notas repetitivas podendo ter ou não estrutura harmônica. Os cantos assoviados são emitidos tanto por espécies de área aberta quanto espécies de mata e cantos trinados foram emitidos por espécies, em sua maioria, de ambiente de mata. Segundo Brandon & Seah (2008) é possível que cantos trinados sejam mais favorecidos em habitats fechados (atenuação mais consistente), enquanto que nos habitats abertos (atenuação mais inconsistente), assovios afinados são mais adaptativos. Os dados para os *Physalaemus* contrapõem essa idéia proposta para os sinais bioacústicos de ortópteros.

Contudo, apesar da alta semelhança morfológica dessas espécies congênicas, o canto de anúncio das espécies analisadas diferiu os três grupos taxonômicos do gênero *Physalaemus* com diferenças significativas em todos os parâmetros bioacústicos estudados, sendo a frequência mínima e a duração da nota os parâmetros que

segregaram completamente os três grupos. O canto mais emitido entre as espécies foi o canto simples e a presença de estrutura harmônica na nota foi encontrada em 50% dos cantos das espécies. Além disso, os parâmetros espectrais do canto de anúncio revelaram que apenas 25% das espécies não foram agrupadas aos seus respectivos grupos taxonômicos (*sensu* Nascimento *et al.*, 2005) e, em relação aos parâmetros temporais do canto, entre 21 e 32% das espécies não foram agrupadas aos seus respectivos grupos taxonômicos (*sensu* Nascimento *et al.*, 2005). Então, é simples a relação entre os parâmetros bioacústicos nesse grupo que usa mecanismos estereotipados de produção de som (Cocroft & Ryan, 1995; Martins & Jim 2003; 2004). Esses resultados aparecem devido à proximidade filogenética, pois são espécies que compartilham características morfológicas como resultado da ancestralidade em comum (Cocroft & Ryan, 1995; Gerhardt & Huber, 2002). O tamanho do corpo é um fator importante na emissão do canto (Sullivan & Walsberg, 1985; Forester & Czarnowsky, 1995; Silva *et al.*, 2008). Portanto, é possível que fatores filogenéticos atuem nos parâmetros do canto de anúncio limitando o espaço bioacústico (Ryan, 1988; Ron *et al.*, 2006).

Determinados parâmetros do canto podem conter um forte sinal filogenético (Robillard *et al.*, 2006), como a estrutura da nota, a frequência mínima e a duração da nota, por estarem diretamente relacionados com o reconhecimento específico. Também, outros parâmetros como a faixa de frequência e, parâmetros temporais como a duração e número de pulsos por nota refletem também as condições ambientais. Deste modo, este tipo de sinal sonoro não é estritamente comportamental, mas, sim, constituem um produto final dos processos evolutivos dos cantos de anuros (Robillard *et al.*, 2006).

Nossos dados, bem como estudos experimentais de acústica e habitat, apóiam a hipótese de que algumas diferenças em cantos de espécies de habitats diferentes é

resultado de seleção ambiental na estrutura do canto para aumentar a eficiência da transmissão. Mas, em espécies congênicas, o canto também sofre forte influência filogenética, podendo também fornecer homologias robustas para uso em estudos comparativos das vocalizações de anuros e para derivar e testar hipóteses evolucionistas, produzindo informações filogenéticas consistentes (Robillard *et al.*, 2006). Mas, para extrair estas informações filogenéticas, é necessária a polarização dos dados através de comparações com um grupo externo.

A delimitação dos parâmetros bioacústicos para mostrar características dos ancestrais e das possíveis adaptações ambientais é necessária para fornecer informações taxonômicas das espécies de anuros (Bickford *et al.*, 2007). Sendo assim, a descrição do canto de anúncio é importante tanto para estudos envolvendo taxonomia quanto para ecologia comportamental (Martino & Sinschi, 2002). Estudos futuros com outros grupos congênicos e sua comparação com grupos externos podem esclarecer melhor os fatores que influenciam o canto e relacioná-los às filogenias dos grupos de anuros.

## **Conclusões**

Não houve influência do habitat nos parâmetros bioacústicos do canto de anúncio das espécies do gênero *Physalaemus*. Houve, sim, uma forte influência filogenética entre essas espécies congênicas, mostrando que este pode ser um importante sinal na interpretação da evolução do canto entre as espécies de anuros. Sendo assim, a descrição dos cantos é importante para estudos envolvendo taxonomia. A influência do habitat no canto foi restrita a diferenças na faixa de frequência emitida pelas espécies, à utilização de harmônicos pelas espécies de área aberta e à maior amplitude nos valores temporais em espécies de ambiente de mata. Nossos dados apóiam a hipótese de que algumas diferenças em cantos entre habitats diferentes sejam

resultado de seleção ambiental na estrutura do canto para aumentar a eficiência da transmissão. Mas, em espécies congênicas, o canto também sofre forte influência filogenética, podendo também fornecer homologias robustas para uso em estudos comparativos das vocalizações de anuros e para derivar e testar hipóteses evolucionistas produzindo informações filogenéticas consistentes.

### **Agradecimentos**

Agradeço aos doutores Adrian Garda, Bruno V. S. Pimenta, Célio F. B. Haddad, Diego Baldo, Luciana B. Nascimento, Marcelo F. Napoli, Michel J. Ryan, Sérgio Potch Carvalho-e-Silva, Zaida Tárano, Jorge Jim (*in memoriam*) e aos Msc. André Pansonato e Carla S. Cassini por disponibilizar as gravações dos cantos. Agradeço à Dra. Denise de Cerqueira Rossa-Feres por disponibilizar o Laboratório de Ecologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Unesp de São José do Rio Preto – SP e ceder materiais para o desenvolvimento dos estudos. Agradeço também a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo suporte financeiro.

### **Referências**

- Ab'Saber, A.N. 1977. Espaços ocupados pela expansão dos climas secos na América do Sul, por ocasião dos períodos glaciais quaternários. *Paleoclimas* (Instituto de Geografia, Universidade de São Paulo) (3): 1-19.
- Barrio, A. 1965. El género *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) en la Argentina. *Physis* (25): 421-448.
- Bastos, R.P.; Signorelli, L.; Morais, T.B.C.; Lima, L.P. & Pombal Jr., J.P. 2011. Advertisement calls of three anuran species (Amphibia) from the cerrado, Central Brazil. *S. Am. J. Herpetol.* 6(2): 67-72.

- Bickford, D.; Lohman, D.J.; Sodhi, N.S.; Ng, P.K.L.; Meier, R.; Winker, K.; Ingram, K.K. & Das, I. 2007. Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends. Ecol. Evol.* (22): 148-155.
- Bokermann, W.C.A. 1966. Notas sobre três espécies de *Physalaemus* de Maracás, Bahia (Amphibia, Leptodactylidae). *Ver. Bras. de Biol.* 26(3): 253-259.
- Bosch, J. & De La Riva, I. 2004. Are frog calls modulated by the environment? An analysis with anuran species from Bolivia. *Canadian Journal of Zoology* (82): 880-888.
- Brandon, K. & Seah, B. 2008. Acoustic Ecology – A review of selective pressures acting on animal calls. Disponível em <http://insects.oeb.harvard.edu/farrelllab/undergrads/bseah/litreview.pdf>. (acesso em 10/01/2013).
- Cardoso, A.J. & Martins, J.E. 1987. Diversidade de anuros durante o turno de vocalizações em comunidade neotropical. *Papéis Avulsos Zoologia, São Paulo*, 36(23): 279-285.
- Cassini, C.S.; Cruz, C.A.G. & Caramaschi, U. 2010. Taxonomic review of *Physalaemus olfersii* (Lichtenstein & Martens, 1856) with revalidation of *Physalaemus lateristriga* (Steindachner, 1864) and description of two new related species (Anura: Leiuperidae). *Zootaxa* (2491): 1-33.
- Cocroft, R.B. & Ryan, M.J. 1995. Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs. *Anim. Behav.* (49): 283-303.
- Conte, M.; Zucchi M.I.; Andrade, G.V.; Souza, A.P. & Recco-Pimentel, S.M. 2011. Study of closely related species within the *Physalaemus cuvieri* group (Anura): contribution of microsatellite markers. *Genet. Mol. Res.* 10 (3): 1434-1444.
- Cruz, C.A.G. & Pimenta, B.V.S. 2004. New species of *Physalaemus* Fitzinger, 1826 from Southern Bahia, Brazil (Anura; Leptodactylidae). *J. Herpet.* 38(4): 480-486.

- Cruz, C.A.G.; Nascimento, L.B. & Feio, R.N. 2007. A new species of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura, Leiuperidae) from Southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia* (28): 457-465.
- Duellman, W.E. & Pyles, R.A. 1983. Acoustic resource partitioning in anuran communities. *Copeia*: 639-649.
- Duellman, W.E. & Trueb, L. 1994. *Biology of Amphibians*. Baltimore and London, McGraw-Hill, 670pp.
- Duellman, W.E. 1970. The hylid frogs of Middle America. *Univ. Kans. Monogr. Mus. nat. Hist.* (1): 1-427.
- Ferrari, L. & Vaira, M. 2001. Advertisement call and breeding activity of *Physalaemus cuqui* (Lobo, 1993). *Herpetological Bulletin* (77): 20-22.
- Forester, D.C. & Czarrowsky, R. 1995. Sexual selection in the Spring Pepper, *Hyla crucifer* (Amphibia, Anura): role of the advertisement call. *Behaviour* 92(1-2): 112-128.
- Forrest, T.G. 1994. From Sender to Receiver: Propagation and Environmental Effects on Acoustic Signals. *Amer. Zool.* (34): 644-654.
- Frost, D.R. 2012. *Amphibian Species of the World: An online reference*. V.5.1. Disponível em: <<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>>. American Museum of History, New York, USA.
- Gerhardt, H.C. 1994. The evolution of vocalization in frogs and toads. *Ann. Rev. Syst.*, (25): 293-324.
- Gerhardt, H.C. 1998. Acoustic signals of animals: recordings, field measurements, analysis and description. In: Hopp, S.L.; Owren, M.J. & Evans, C.S. (Eds.) *Animal Acoustic Communication*. Berlin: Springer Verlag.: 1-25.



- Gerhardt, H.C. & Huber, F. 2002. Acoustic Communication in Insects and Anurans. Common Problems and Diverse Solutions. Chicago, Chicago Univ. Press: 165pp.
- Haddad, C.F.B. & Pombal Jr, J.P. 1998. Redescription of *Physalaemus spiniger* (Anura: Leptodactylidae) and description of two new reproductive modes for anurans. J.Herpetol. 32(4): 557-565.
- Hartmann, M.T.; Hartmann, P.A. & Haddad, C.F.B. 2002. Advertisement calls of *Chiasmocleis carvalhoi*, *Chiasmocleis mehelyi*, and *Myersiella microps* (Microhylidae). J. Herpetol. (36): 509-511.
- Heyer, W.R.; García-Lopez, J.M. & Cardoso, A.J. 1996. Advertisement call variation in the *Leptodactylus mystaceus* species complex (Amphibia: Leptodactylidae) with a description of a new sibling species. Amphibia-Reptilia 17(1): 7-31.
- Heyer, W.R.; Rand, A.S.; Cruz, C.A.G.; Peixoto, O.L. & Nelson, C.E. 1990. Frogs of Boracéia. Arquivos de Zoologia São Paulo 31(4): 231-410.
- IUCN, Conservation International, and NatureServe. 2006. Global Amphibian Assessment. Accessible at <http://www.globalamphibians.org>. Acesso em: 04.08.2012.
- Kaefer, I.L.; Erdtmann, L.K. & Lima, A.P. 2011. The advertisement call of *Physalaemus ephippifer* (Anura: Leiuperidae) from Brazilian Amazonia. Zootaxa 2929: 57–58.
- Krebs, C.J. 1999. Ecological methodology. Addison Wesley Educational Publishers, Menlo Park: 607pp.
- Littlejohn, M. & Loftus-Hills, J.J. 1968. An experiential evaluation of premating isolation in the *Hyla ewingi* complex. Evolution (22): 659-663.
- Littlejohn, M.J. 1977. Long-range acoustic communication in anurans: an integrated and evolutionary approach. In: Taylor, H.D. & Guttman, S.I. (Eds.). The Reproductive Biology of Amphibians, Plenum Press, New York: 263-294.

- Márquez, R. & Bosch, J. 1997. Female preference in complex acoustical environments in the midwife toads *Alytes obstetricans* and *Alytes cisternasii*. *Behav. Ecol.* (6): 588-594.
- Márquez, R.; De La Riva, I. & Bosch, J. 1993. Advertisement calls of Bolivian species of *Hyla*. *Biotropica* (25): 426-443.
- Martino, A.L. & Sinsch, U. 2002. Speciation by polyploidy in *Odontophrynus americanus*. *J. Zool.* (257): 67-81.
- Martins, I.A. & Jim, J. 2003. Bioacoustic analysis of advertisement call in *Hyla nana* and *Hyla sanborni* in Botucatu, São Paulo, Brazil. *J. Biol.* (63): 507-516.
- Martins, I.A. & Jim, J. 2004. Advertisement call of *Hyla jimi* and *Hyla elianeae* (Anura, Hylidae) in Botucatu Region, São Paulo, Brazil. *J. Biol.* (64): 645-654.
- Martins, I.A., Almeida, S.C. & Jim, J. 2006. Calling sites and acoustic partitioning in species of the *Hyla nana* and *Hyla rubicundula* group. *Herpetological Journal* (16): 239-247.
- Morton, E.S. 1975. Ecological sourcer of selection on avian sounds. *Amer. Natur.* (109): 17-34.
- Nascimento, L.B., Caramaschi, U. & Cruz, C.A.G. 2005. Taxonomic review of the species groups of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 with *Eupemphix* Steindachner, 1836 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Arquivos do Museu Nacional* 63(2): 297-320.
- Ossen, K.L. & Wassersug, R.J. 2002. Environmental factors influencing calling in sympatric anurans. *Oecologia* (133): 616-625.
- Passmore, N.I. 1981. The relevance of the specific mate recognition concept to anuran reproductive biology. *Monitore Zool. Ital.* (6): 93-108.

- Richards, D.G. & Wiley, R.H. 1982. Reverberations and amplitude fluctuations in the propagation of sound in a forest: implications for animal communication. *Amer. Natur.* (115): 381-391.
- Robillard, T.; Höbel, G. & Gerhadt, C. 2006. Evolution of advertisement signals in North American hylid frogs: vocalizations as end-products of calling behavior. *Cladistics*, (22): 533-545.
- Romer, H. & Jörg, L. 1992. High-frequency sound transmission in natural habitats: implications for the evolution of insect acoustic communication. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 6(29): 437-444.
- Ron, S.R.; Santos, J.C. & Cannatella, D.C. 2006 Phylogeny of the túngara frog genus *Engystomops* (*Physalaemus pustulosus* species group; Anura: Leptodactylidae) *Mol. Phylogenet. Evol* (39): 392-403.
- Ryan, M.J & Wilczynski, W. 1991. Evolution of intraspecific variation in the advertisement call of a cricket frog (*Acris crepitans*, Hylidae). *Biol. J. Linnean Soc.* (44): 249-271.
- Ryan, M.J. 1985. *The Túngara Frog, a Study in Sexual Selection and Communication.* Chicago: University of Chicago Press: 230pp.
- Ryan, M.J. 1988. Energy, calling, and selection. *Am. Zool.* (28): 885-898.
- Ryan, M.J. 2001. *Anuran Communication.* Smithsonian Institution Press, Washington, DC: 252pp.
- Schwartz, J.J. 1987. The function of call alternation in anuran amphibians: a test of three hypotheses. *Evolution* (41):461-471.
- Silva, R.A.; Martins, I.A. & Rossa-Feres, D.C. 2011. Environmental heterogeneity: Anuran diversity in homogeneous environments. *Zoologia* 28(5): 610-618.

- Silva, R.A.; Ross-Feres, D.C. & Marins, I.A. 2008. Bioacústica e sítio de vocalização em taxocenoses de anuros de área aberta no Noroeste Paulista. *Biota Neotrop.* 8(3): 123-134.
- Straneck, R.; Olmedo, E.V. & Carrizo, G.R. 1993. *Catálogo de Voces de Anfíbios Argentinos, parte 1. L.O.L.A. (literature of Latin América)*, Buenos Aires: 131pp.
- Sullivan, B.K. & Walsberg, G.E. 1985. Call rate and aerobic capacity in woodhouse's toad (*Bufo woodhousei*). *Herpetologica* 41(4): 404-407.
- Táranó, Z & Guyer C. 2001. Variation in Male Advertisement Calls in the Neotropical Frog *Physalaemus enesefae*. *Copeia* (4): 1064-1072.
- Weber, L.N.; Gonzaga, L.P. & Carvalho-e-Silva, S.P. 2005. A new species of *Physalaemus* Fitzinger, 1826 from the lowland atlantic Forest of Rio de Janeiro State, Brazil (Amphibia, Anura, Leptodatyliidae). *Arquivos do Museu Nacional* 63(4): 677-684.
- Wells, K.D. 1988. The effects of social interactions on anuran vocal behavior. In: *The evolution of the amphibian auditory system*. Fritszch, B; Wilczynski, W.; Ryan, M.J.; Hetherington, T.; Walkowiak, W. (Eds.). Wiley, New York: 433-454.
- Wells, K.D. 1977. The social behaviour of anuran amphibians. *Anim. Behav.* (25): 666-693.
- Wiley, E.O. 1981. *Phylogenetics, the Theory and Practice of Phylogenetic Systematics*. Wiley, New York: 344pp.
- Zar, J.H. 1999. *Biostatistical analysis*. Prentice-Hall, New Jersey: 942pp.
- Zimmermann, B.L. 1983. A comparison of structural features of calls of open and forest habitat frog species in the Central Amazon. *Herpetologica* (39): 235-246.

Zimmermann, B.L. 1983. A comparison of structural features of calls of open and forest habitat species in the central Amazon. *Herpetologica* 39(3): 235-246.

## Tabelas

**Tabela I** – Médias, desvios padrão, valores mínimo e máximo dos parâmetros acústicos das 28 espécies do gênero *Physalaemus*. FmI – frequência mínima, FMa – frequência máxima, FD – frequência dominante, EN – estrutura da nota (n/c - número de notas por canto e H – número de harmônicos), DN – duração da nota, IN – intervalo entre notas, DP – duração dos pulsos, NP – número de pulso, TR – taxa de repetição da nota e NC – número de cantos analisados. (-) dados insuficientes.

Espécies	FmI	FMa	FD	EN	DN	IN	DP	NP	TR	NC
<i>P. aguirrei</i>	0,36±0,03 (0,31-0,46)	4,67±0,8 (4,46-4,82)	3,07±0,23 (2,84-3,32)	H 1 n/c	0,27±0,04 (0,2-0,36)	1,00±0,65 (0,59-1,9)	0,002±0,0003 (0,001-0,002)	139,2±14,96 (119-184)	45,56±4,68 (40,2-48,86)	40
<i>P. feioi</i>	1,87±0,03 (1,8-1,92)	3,27±0,07 (3,2-3,5)	2,48±0,04 (2,37-2,5)	S/H 63 n/c	0,04±0,005 (0,03-0,05)	0,04±0,005 (0,03-0,05)	0,002±0,0005 (0,002-0,003)	15,38±1,56 (10-19)	826±23,3 (800-845)	35
<i>P. lateristriga</i>	0,94±0,08 (0,83-1,11)	2,57±0,1 (2,37-2,74)	1,74±0,17 (1,2-1,9)	S/H 1 n/c	3,32±0,8 (2,22-5,3)	2,28±1,13 (0,88-5,3)	0,004±0,001 (0,003-0,006)	712±111 (505-980)	11,12±2,48 (8,28-13,96)	54
<i>P. maximus</i>	0,66±0,003 (0,65-0,66)	2,02±0,01 (2,01-2,03)	0,75±0,03 (0,73-0,77)	H 1 n/c	2,14±0,05 (2,1-2,2)	2,47 -	0,005±0,001 (0,005-0,006)	387±9,19 (381-394)	13,27 -	3
<i>P. olfersii</i>	1,15±0,22 (0,92-1,57)	2,79±0,1 (2,67-3,1)	2,0±0,24 (1,38-2,41)	S/H 1 n/c	3,06±0,64 (2,14-4,25)	2,51±1,17 (0,88-6,56)	0,004±0,001 (0,003-0,008)	696±140 (410-1012)	10,84±1,86 (8,34-13,13)	79
<i>P. orophilus</i>	2,11±0,17 (1,78-2,28)	3,86±0,15 (3,68-4,12)	2,97±0,07 (2,81-3,0)	S/H 66 n/c	0,027±0,005 (0,02-0,04)	0,03±0,007 (0,02-0,05)	0,003±0,001 (0,002-0,004)	9±2,4 (6-13)	889 (880-899)	21
<i>P. soaresi</i>	1,72±0,27 (1,34-2,25)	4,23±0,34 (3,7-5,0)	2,69±0,35 (2,24-3,44)	S/H 1 n/c	1,96±0,47 (1,3-3,17)	3,7±0,83 (2,35-5,78)	0,001±0,0005 (0,001-0,002)	1390±431 (1006-2106)	9,66±2,09 (6-11)	40
<i>P. albonotatus</i>	0,42±0,05 (0,33-0,49)	3,4±0,2 (3,02-3,81)	2,59±0,19 (2,24-3,01)	H 1 n/c	1,43±0,17 (1,03-1,74)	3,83±2,4 (1,59-11,24)	0,003±0,001 (0,002-0,006)	447,5±53,47 (323-544)	12,29±4,37 (5,38-16,64)	62
<i>P. centralis</i>	0,29±0,04 (0,23-0,36)	2,03±0,2 (1,73-2,58)	1,28±0,21 (0,86-1,72)	H 1 n/c	0,44±0,08 (0,3-0,6)	0,58±0,25 (0,31-1,54)	0,004±0,001 (0,003-0,007)	48,9±12,47 (30-87)	61±6,24 (47,2-70,7)	105
<i>P. cicada</i>	1,97±0,09 (1,74-2,14)	4,12±0,65 (3,1-4,89)	3,00±0,52 (2,07-3,62)	H 255 n/c	0,02±0,003 (0,013-0,029)	0,02±0,004 (0,012-0,035)	0,002±0,001 (0,001-0,005)	6±1,9 (2-11)	1587±237 (1132-1875)	107
<i>P. cuqui</i>	0,31±0,04 (0,24-0,39)	3,64±0,25 (3,26-3,97)	2,5±0,13 (2,24-2,58)	H 1 n/c	1,61±0,34 (1,13-2,43)	3,48±1,2 (1,87-7,12)	0,002±0,0003 (0,002-0,003)	700±150 (490-1054)	12,06±0,32 (11,84-12,29)	26

<i>P. cuvieri</i>	0,39±0,09 (0,21-0,69)	2,94±0,45 (1,9-4,5)	0,68±0,12 (0,47-0,9)	H 1 n/c	0,31±0,12 (0,18-0,77)	0,9±0,85 (0,22-6,56)	0,002±0,001 (0,001-0,003)	182,15±48,86 (113-299)	64,47±23,57 (13,88-108)	291
<i>P. ephippifer</i>	0,41±0,09 (0,32-0,58)	3,27±0,35 (2,7-3,77)	0,8±0,08 (0,69-0,86)	H 1 n/c	0,27±0,04 (0,19-0,35)	4,92±2,92 (2,16-15,84)	0,003±0,001 (0,001-0,006)	93,58±12,89 (66-121)	13,22±3,46 (9,7-18,51)	53
<i>P. erikae</i>	0,31±0,03 (0,25-0,34)	4,3±0,27 (3,95-4,67)	2,77±0,11 (2,58-2,93)	H 1 n/c	0,59±0,08 (0,51-0,74)	9,17±3,84 (5,04-14,05)	0,002±0,0004 (0,002-0,003)	266,3±15,12 (243-295)	7,23 -	11
<i>P. fischeri</i>	0,34±0,06 (0,27-0,6)	3,97±0,13 (3,7-4,31)	0,91±0,05 (0,78-1,04)	H 1 n/c	0,72±0,08 (0,58-1)	0,32±0,14 (0,14-0,66)	0,003±0,001 (0,002-0,006)	230±36 (166-303)	58,85±9,12 (47,3-70)	51
<i>P. kroyeri</i>	0,54±0,05 (0,69-0,41)	3,61±0,2 (3,3-3,97)	2,69±0,17 (2,41-2,93)	H 1 n/c	0,42±0,04 (0,33-0,54)	0,91±0,5 (0,28-1,98)	0,003±0,0005 (0,002-0,005)	142,9±19,71 (97-190)	57,5±12,89 (44,4-79,8)	95
<i>P. angrensis</i>	0,65±0,06 (0,52-0,75)	2,23±0,06 (2,06-2,42)	1,2±0,04 (1,03-1,38)	S/H 1 n/c	0,56±0,07 (0,47-0,5)	0,46±0,05 (0,4-0,5)	0,014±0,005 (0,01-0,04)	28,12±1,96 (25-30)	53,1 -	35
<i>P. atlanticus</i>	0,62±0,09 (0,49-0,83)	1,98±0,21 (1,68-2,26)	1,35±0,11 (1,03-1,55)	S/H 1 n/c	0,91±0,32 (0,46-1,86)	0,63±0,22 (0,32-1,8)	0,12±0,004 (0,004-0,02)	81,02±23,4 (50-133)	37,57±2,7 (33-40)	83
<i>P. bokermanni</i>	2,05±0,1 (1,88-2,25)	5,04±0,26 (4,31-5,68)	3,31±0,32 (2,58-3,79)	S/H 5 n/c	0,01±0,002 (0,006-0,015)	0,03±0,004 (0,02-0,037)	0,002±0,001 (0,001-0,006)	3,63±0,83 (2-5)	267 -	50
<i>P. camacan</i>	0,66±0,09 (0,43-0,87)	1,81±0,07 (1,71-2,16)	1,42±0,08 (1,29-1,69)	S/H 1 n/c	0,76±0,07 (0,65-1)	0,52±0,27 (0,32-2,19)	0,004±0,001 (0,001-0,009)	170,13±32,03 (17-224)	45,89±8 (29,75-53,3)	110
<i>P. crombiei</i>	0,59±0,07 (0,47-0,86)	1,99±0,14 (1,75-2,34)	1,27±0,19 (1,03-1,55)	H 1 n/c	0,38±0,04 (0,29-0,48)	0,47±0,14 (0,29-0,97)	0,04±0,01 (0,03-0,15)	8,83±0,64 (8-10)	70,28±7,75 (56,37-81,41)	101
<i>P. irroratus</i>	1,1±0,04 (1,01-1,2)	2,23±0,04 (2,13-2,32)	1,66±0,09 (1,19-1,75)	S/H 5 n/c	0,05±0,006 (0,04-0,06)	0,2±0,02 (0,18-0,24)	0,003±0,001 (0,002-0,009)	8,9±2,6 (4-15)	40,51 -	31
<i>P. maculiventris</i>	0,6±0,04 (0,52-0,66)	1,98±0,07 (1,9-2,15)	1,16±0,06 (1,03-1,2)	S/H 1 n/c	0,21±0,008 (0,2-0,22)	1,7±0,82 (0,89-3,63)	0,006±0,0007 (0,005-0,007)	28,8±1,4 (27-32)	31,4 -	11
<i>P. moreirae</i>	0,45±0,1 (0,33-0,55)	1,61±0,08 (1,54-1,73)	1,12±0,17 (0,77-1,21)	S/H 1 n/c	0,57±0,02 (0,54-0,59)	0,57±0,11 (0,41-0,66)	0,02±0,003 (0,016-0,026)	20±1,11 (19-22)	53,54±0,79 (52,63-54,1)	10
<i>P. nanus</i>	0,61±0,12	3,28±0,27	1,93±0,15	H	0,2±0,02	2,35±1,07	0,02±0,012	8,05±2,17	25,81±5,7	40

	(0,48-0,86)	(2,45-3,91)	(1,72-2,24)	8 n/c	(0,17-0,25)	(1,04-4,9)	(0,008-0,06)	(4-16)	(21,79-29,83)
<i>P. obtectus</i>	1,02±0,6 (0,85-1,13)	2,09±0,14 (1,69-2,24)	1,21±0,1 (1,03-1,64)	S/H 4-5 n/c	0,05±0,01 (0,03-0,08)	0,07±0,01 (0,04-0,09)	0,003±0,001 (0,002-0,009)	20,38±4,08 (10-32)	44,37±1,92 (41,1-45,85)
<i>P. signifer</i>	0,83±0,2 (0,58-1,13)	2,18±0,16 (1,88-2,5)	1,36±0,25 (1,03-1,64)	H 1 n/c	0,54±0,12 (0,33-0,77)	0,55±0,11 (0,36-1,08)	0,003±0,001 (0,002-0,008)	158,6±48,28 (81-247)	54,65±8,06 (43,2-65,4)
<i>P. spiniger</i>	0,80±0,07 (0,66-0,99)	3,43±0,2 (3,1-3,92)	1,67±0,31 (1,2-2,24)	H 1 n/c	0,23±0,04 (0,17-0,38)	2,35±1,97 (0,3-6,33)	0,003±0,001 (0,002-0,005)	76,86±15,45 (50-100)	18,05±4,94 (12,37-21,36)



## Figuras



Figura 1 – Mapa da América do Sul com a distribuição de ocorrência das nove espécies do grupo *Physalaemus cuvieri* (vermelho – área aberta) e das 19 espécies dos grupos *P. signifer* e *P. olfersii* (azul – área de mata). Fonte: IUCN Red list website.

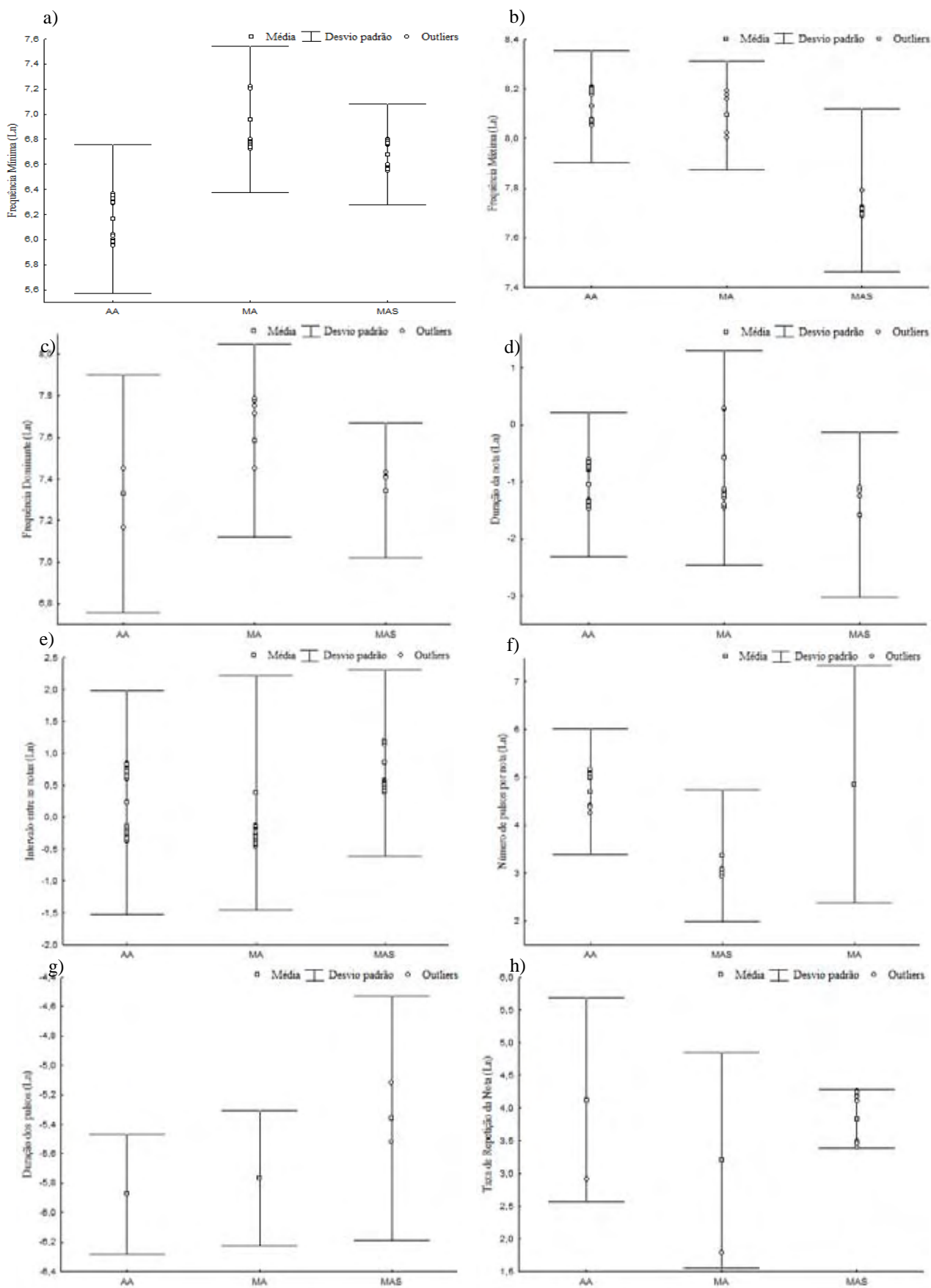


Figura 2 – Análise de variância (ANOVA) de espécies do grupo *P. cvieri* de área aberta (AA), grupo *P. olfersii* (MA) e grupo *P. signifer* (MAS) espécies de mata de oito parâmetros bioacústicos: a) frequência mínima, b)

frequência máxima, c) frequência dominante, d) duração da nota, e) intervalo entre as notas, f) número de pulsos, g) duração dos pulsos e h) taxa de repetição.

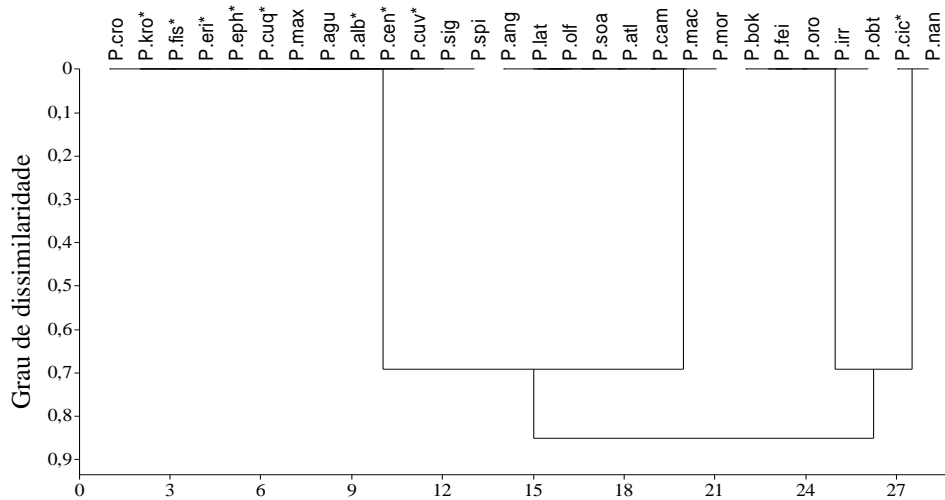


Figura 3 – Similaridade entre as estruturas das notas: canto formado por uma ou mais de uma nota e presença ou não de harmônicos dos cantos de anúncio de 28 espécies do gênero *Physalaemus*: P. alb – *P. albonotatus*, P. cen – *P. centralis*, P. cic – *P. cicada*, P. cuq – *P. cuqui*, P. cuv – *P. cuvieri*, P. eph – *P. ephippifer*, P. eri – *P. erikae*, P. fis – *P. fischeri*, P. kro – *P. kroyeri*, P. ang – *P. angrensis*, P. atl – *P. atlanticus*, P. bok – *P. bokermanni*, P. cam – *P. camacan*, P. cro – *P. crombiei*, P. mac – *P. maculiventris*, P. mor – *P. moreirae*, P. nan – *P. nanus*, P. obt – *P. obtectus*, P. sig – *P. signiger*, P. spi – *P. spiniger*, P. agu – *P. aguirrei*, P. fei – *P. feioi*, P. irr. – *P. irroratus*, P. lat – *P. lateritriga*, P. max – *P. maximus*, P. oro – *P. orophylus* e P. soa – *P. soaresi*. \* espécies de área aberta. Bootstrap 1000 replicações. (coef. corr. = 0,97).

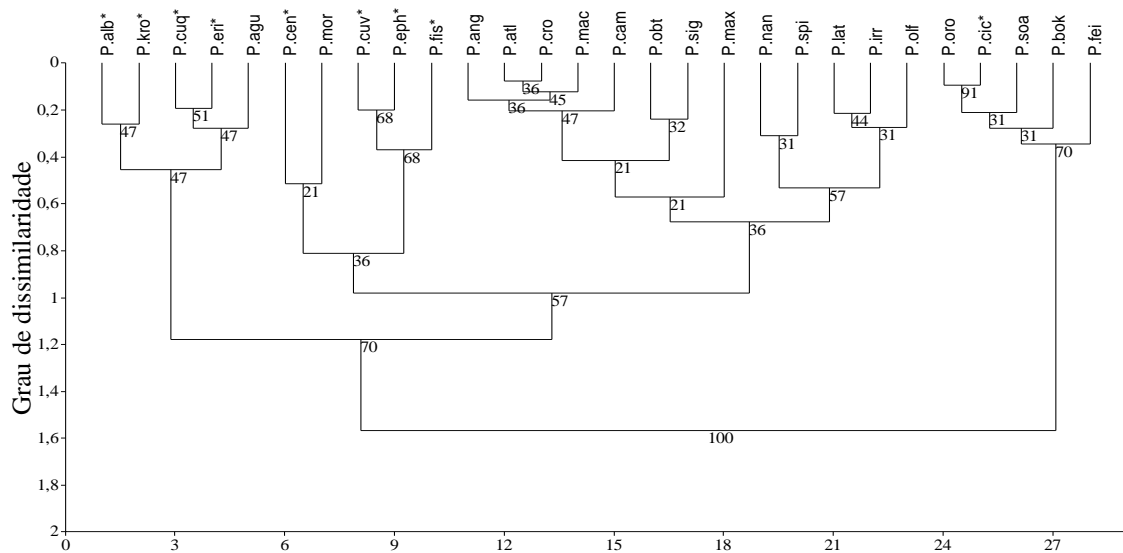


Figura 4 – Similaridade entre os parâmetros espectrais: frequências máxima, mínima e dominante dos cantos de anúncio de 28 espécies do gênero *Physalaemus*: P. alb – *P. albonotatus*, P. cen – *P. centralis*, P. cic – *P. cicada*, P. cuq – *P. cuqui*, P. cuv – *P. cuvieri*, P. eph – *P. ephippifer*, P. eri – *P. erikae*, P. fis – *P. fischeri*, P. kro – *P. kroyeri*, P. ang – *P. angrensis*, P. atl – *P. atlanticus*, P. bok – *P. bokermanni*, P. cam – *P. camacan*, P. cro – *P. crombiei*, P. mac – *P. maculiventris*, P. mor – *P. moreirae*, P. nan – *P. nanus*, P. obt – *P. obtectus*, P. sig – *P. signiger*, P. spi – *P. spiniger*, P. agu – *P. aguirrei*, P. feioi – *P. feioi*, P. irr. – *P. irroratus*, P. lat – *P. lateritriga*, P. max – *P. maximus*, P. oro – *P. orophilus* e P. soa – *P. soaresi*. \* espécies de área aberta. *Bootstrap* 1000 replicações. (coef. corr. = 0,83).

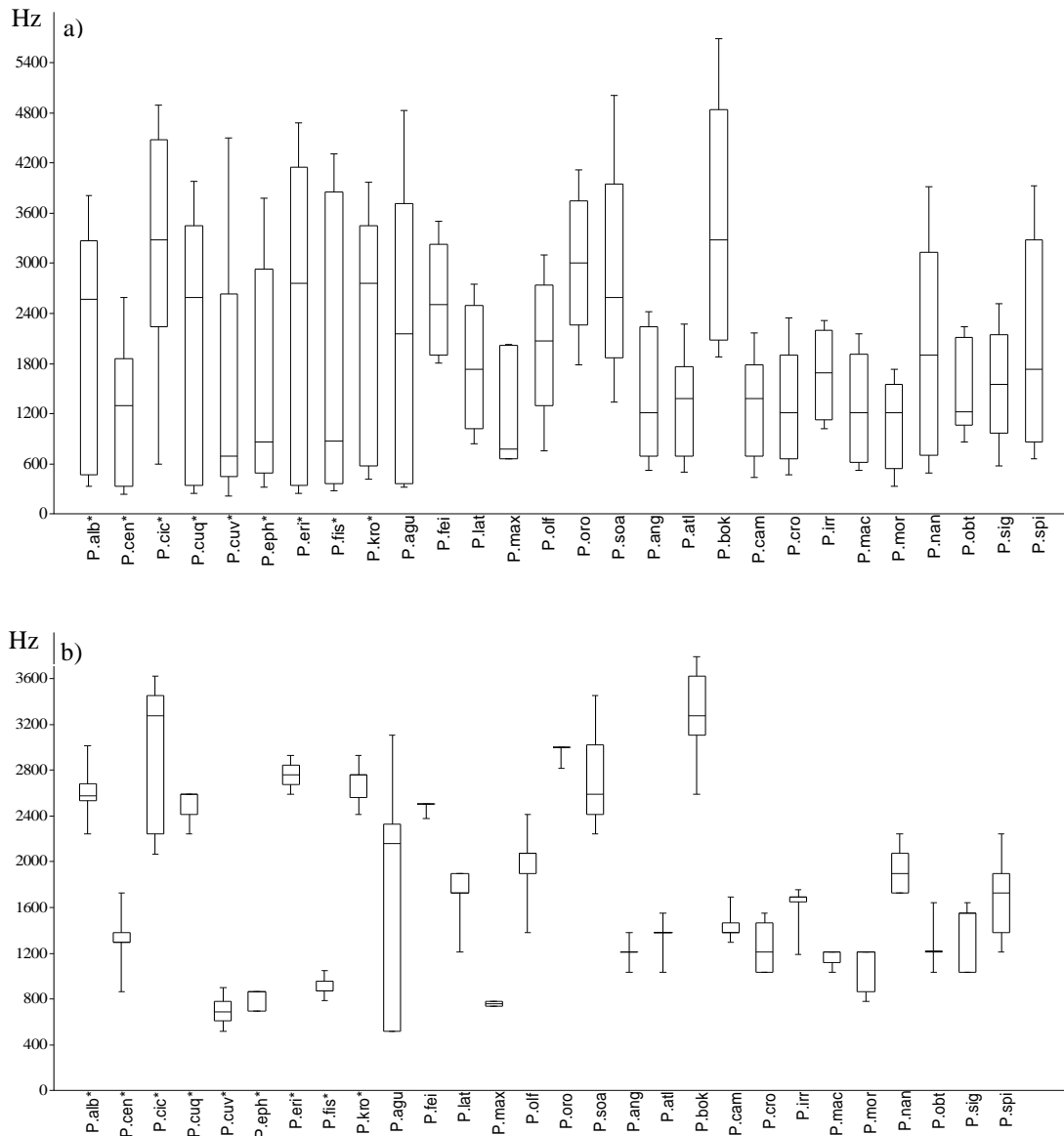


Figura 5 – a) faixa de frequência e b) frequência dominante dos cantos de anúncio de 28 espécies do gênero *Physalaemus*. P. alb – *P. albonotatus*, P. cen – *P. centralis*, P. cic – *P. cicada*, P. cuq – *P. cuqui*, P. cuv – *P. cuvieri*, P. eph – *P. ephippifer*, P. eri – *P. erikae*, P. fis – *P. fischeri*, P. kro – *P. kroyeri*, P. ang – *P. angrensis*, P. atl – *P. atlanticus*, P. bok – *P. bokermanni*, P. cam – *P. camacan*, P. cro – *P. crombiei*, P. mac – *P. maculiventris*, P. mor – *P. moreirae*, P. nan – *P. nanus*, P. obt – *P. obtectus*, P. sig – *P. signiger*, P. spi – *P. spiniger*, P. agu – *P. aguirrei*, P. fei – *P. feioi*, P. irr. – *P. irroratus*, P. lat – *P. lateritriga*, P. max – *P. maximus*, P. oro – *P. orophilus* e P. soa – *P. soaresi*. \* espécies de área aberta.

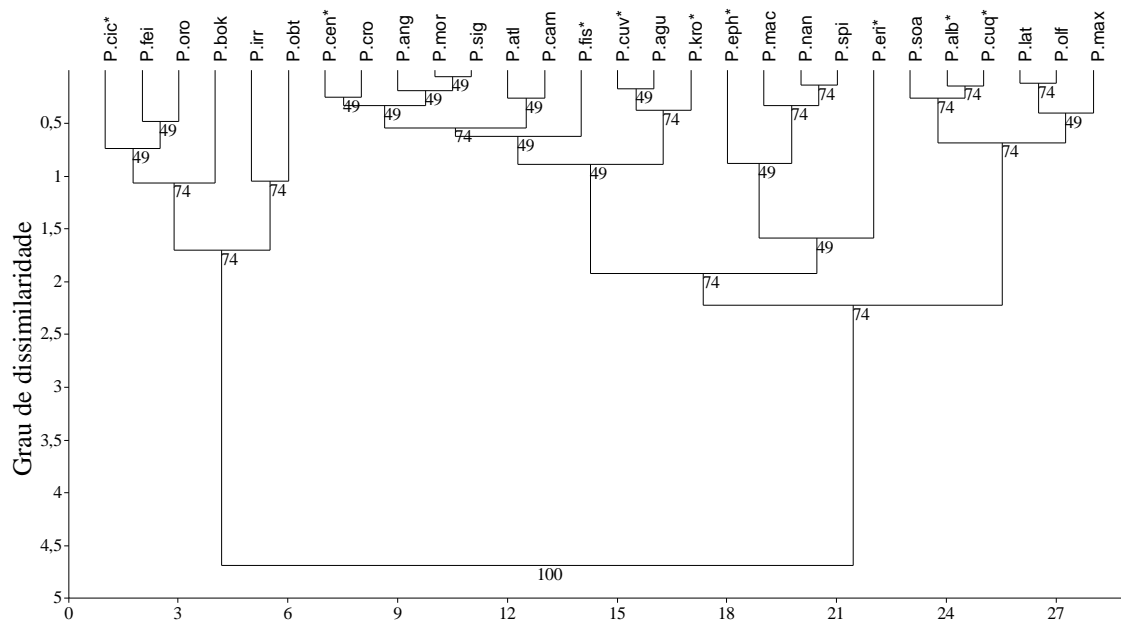


Figura 6 – Similaridade entre a duração e intervalo entre as notas dos cantos de anúncio de 28 espécies do gênero *Physalaemus*: P. alb – *P. albonotatus*, P. cen – *P. centralis*, P. cic – *P. cicada*, P. cuq – *P. cuqui*, P. cuv – *P. cuvieri*, P. eph – *P. ephippifer*, P. eri – *P. erikae*, P. fis – *P. fischeri*, P. kro – *P. kroyeri*, P.ang – *P. angrensis*, P. atl – *P. atlanticus*, P. bok – *P. bokermanni*, P. cam – *P. camacan*, P. cro – *P. crombiei*, P. mac – *P. maculiventris*, P. mor – *P. moreirae*, P. nan – *P. nanus*, P. obt – *P. obtectus*, P. sig – *P. signiger*, P. spi – *P. spiniger*, P. agu – *P. aguirrei*, P. fei – *P. feioi*, P. irr. – *P. irroratus*, P. lat – *P. lateritriga*, P. max – *P. maximus*, P. oro – *P. orophilus* e P. soa – *P. soaresi*. \* espécies de área aberta. Bootstrap 1000 replicações. (coef. corr. = 0,89).

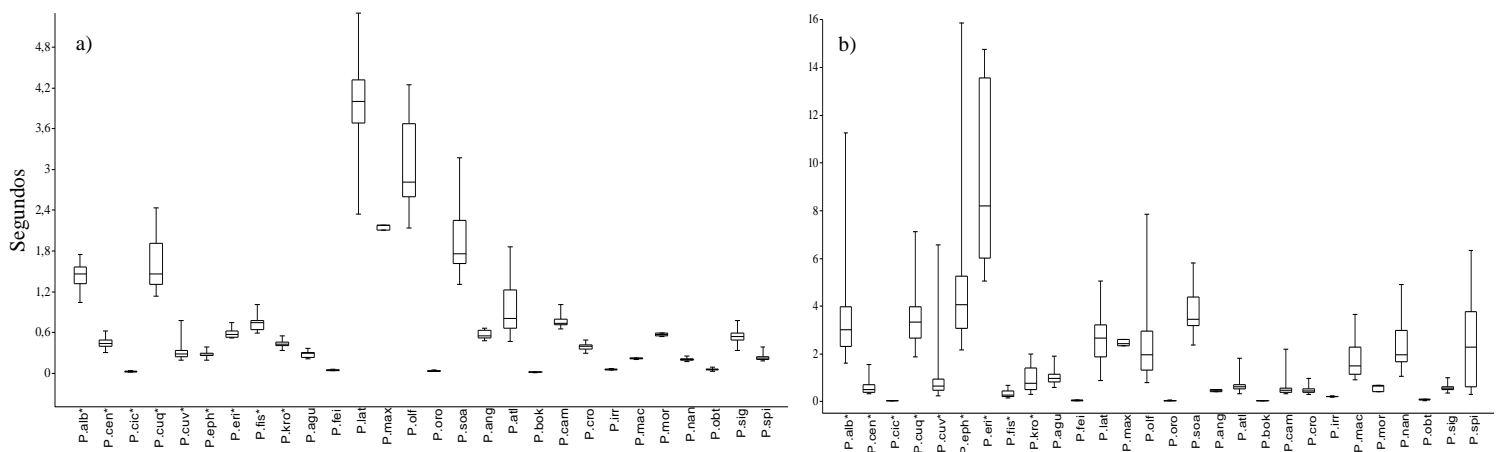


Figura 7 – a) duração da nota e b) intervalo entre as notas dos cantos de anúncio de 28 espécies do gênero *Physalaemus*. P. alb – *P. albonotatus*, P. cen – *P. centralis*, P. cic – *P. cicada*, P. cuq – *P. cuqui*, P. cuv – *P. cuvieri*, P. eph – *P. ephippifer*, P. eri – *P. erikae*, P. fis – *P. fischeri*, P. kro – *P. kroyeri*, P.ang – *P. angrensis*, P. atl – *P. atlanticus*, P. bok – *P. bokermanni*, P. cam – *P. camacan*, P. cro – *P. crombiei*, P. mac – *P. maculiventris*, P. mor – *P. moreirae*, P. nan – *P. nanus*, P. obt – *P. obtectus*, P. sig – *P. signiger*, P. spi – *P. spiniger*, P. agu – *P. aguirrei*, P. fei – *P. feioi*, P. irr. – *P. irroratus*, P. lat – *P. lateritriga*, P. max – *P. maximus*, P. oro – *P. orophilus* e P. soa – *P. soaresi*. \* espécies de área aberta.

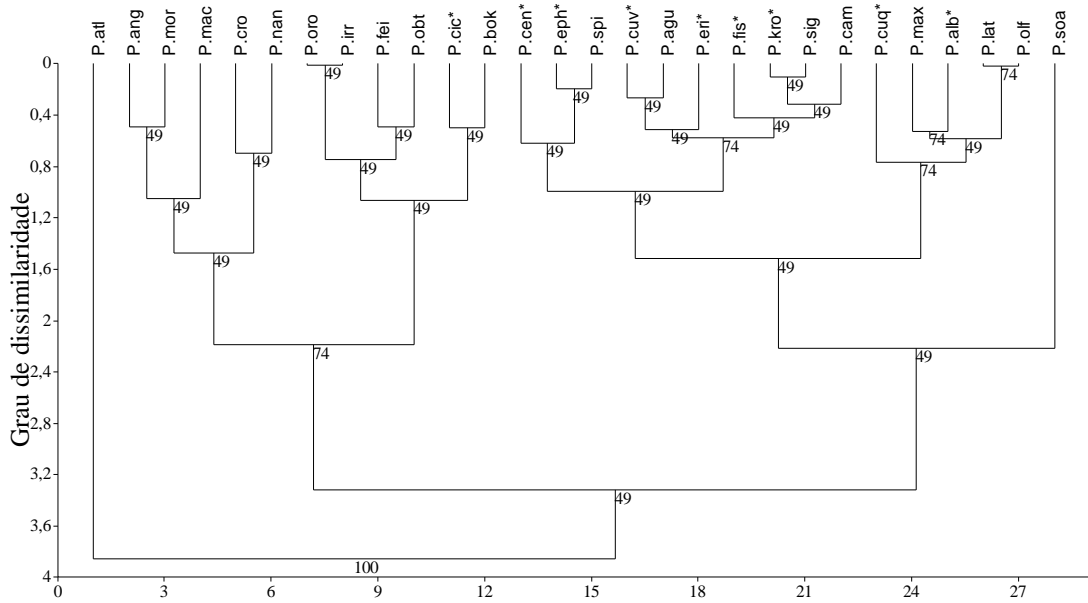


Figura 8 – Similaridade entre a duração e número de pulsos dos cantos de anúncio de 28 espécies do gênero *Physalaemus*: P. alb – *P. albonotatus*, P. cen – *P. centralis*, P. cic – *P. cicada*, P. cuq – *P. cuqui*, P. cuv – *P. cuvieri*, P. eph – *P. ephippifer*, P. eri – *P. erikae*, P. fis – *P. fischeri*, P. kro – *P. kroyeri*, P. ang – *P. angrensis*, P. atl – *P. atlanticus*, P. bok – *P. bokermanni*, P. cam – *P. camacan*, P. cro – *P. crombiei*, P. mac – *P. maculiventris*, P. mor – *P. moreirae*, P. nan – *P. nanus*, P. obt – *P. obtectus*, P. sig – *P. signiger*, P. spi – *P. spiniger*, P. agu – *P. aguirrei*, P. fei – *P. feioi*, P. irr. – *P. irroratus*, P. lat – *P. lateritriga*, P. max – *P. maximus*, P. oro – *P. orophilus* e P. soa – *P. soaresi*. \* espécies de área aberta. *Bootstrap* 1000 replicações. (coef. corr. = 0,8).

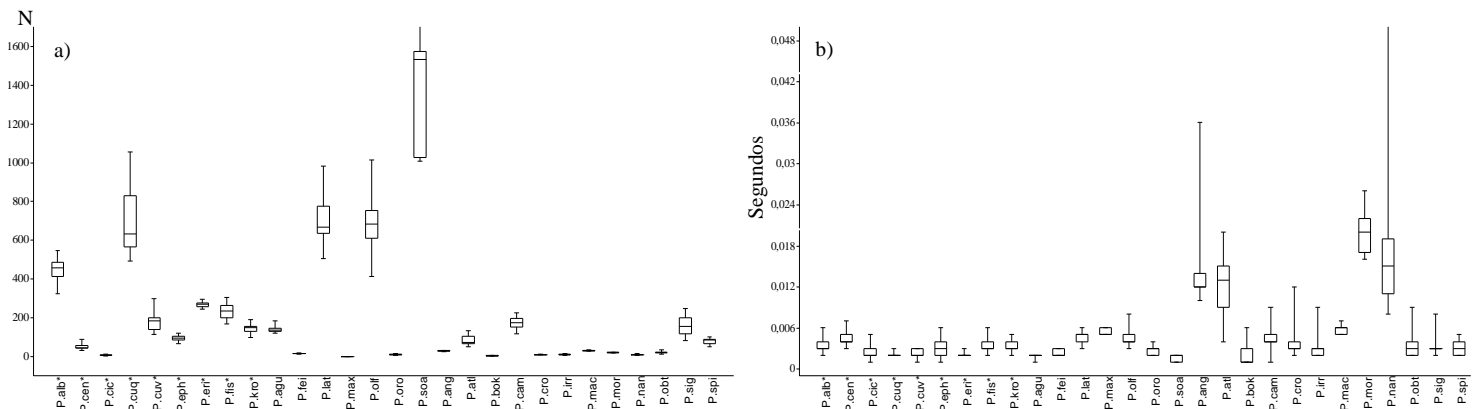


Figura 9 – a) número de pulsos e b) duração dos pulsos dos cantos de anúncio de 28 espécies do gênero *Physalaemus*. P. alb – *P. albonotatus*, P. cen – *P. centralis*, P. cic – *P. cicada*, P. cuq – *P. cuqui*, P. cuv – *P. cuvieri*, P. eph – *P. ephippifer*, P. eri – *P. erikae*, P. fis – *P. fischeri*, P. kro – *P. kroyeri*, P. ang – *P. angrensis*, P. atl – *P. atlanticus*, P. bok – *P. bokermanni*, P. cam – *P. camacan*, P. cro – *P. crombiei*, P. mac – *P. maculiventris*, P. mor – *P. moreirae*, P. nan – *P. nanus*, P. obt – *P. obtectus*, P. sig – *P. signiger*, P. spi – *P. spiniger*, P. agu – *P. aguirrei*, P. fei – *P. feioi*, P. irr. – *P. irroratus*, P. lat – *P. lateritriga*, P. max – *P. maximus*, P. oro – *P. orophilus* e P. soa – *P. soaresi*. \* espécies de área aberta.

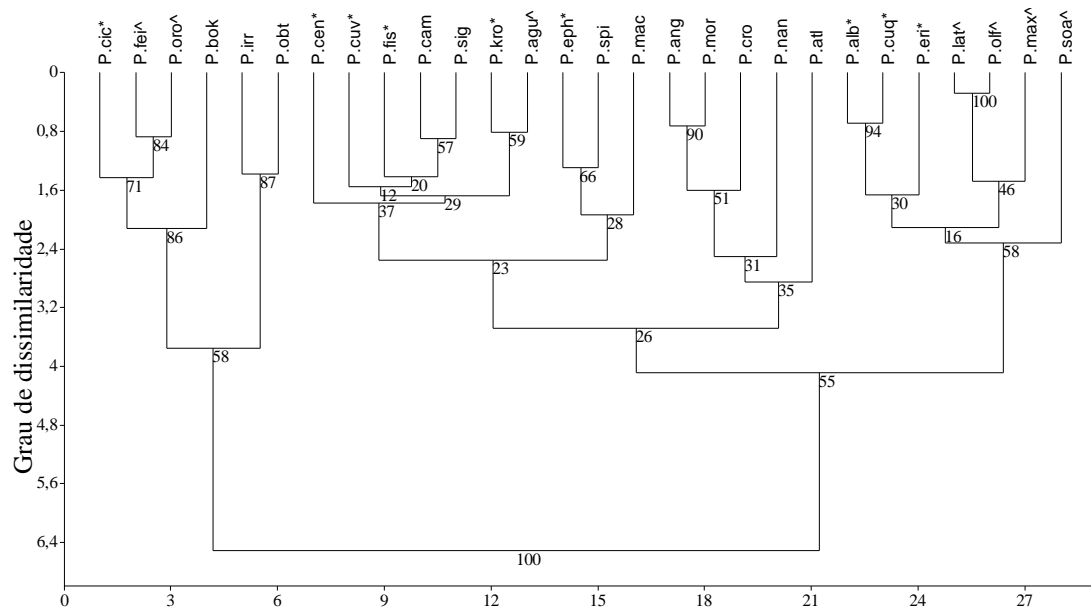


Figura 10 – Similaridade entre todos os parâmetros analisados dos cantos de anúncio de 28 espécies do gênero *Physalaemus*: P. alb – *P. albonotatus*, P. cen – *P. centralis*, P. cic – *P. cicada*, P. cuq – *P. cuqui*, P. cuv – *P. cuvieri*, P. eph – *P. ephippifer*, P. eri – *P. erikae*, P. fis – *P. fischeri*, P. kro – *P. kroyeri*, P.ang – *P. angrensis*, P. atl – *P. atlanticus*, P. bok – *P. bokermanni*, P. cam – *P. camacan*, P. cro – *P. crombiei*, P. mac – *P. maculiventris*, P. mor – *P. moreirae*, P. nan – *P. nanus*, P. obt – *P. obtectus*, P. sig – *P. signiger*, P. spi – *P. spiniger*, P. agu – *P. aguirrei*, P. fei – *P. feioi*, P. irr. – *P. irroratus*, P. lat – *P. lateritriga*, P. max – *P. maximus*, P. oro – *P. orophilus* e P. soa – *P. soaresi*. \* espécies do grupo *P. cuvieri*, ^ espécies do grupo *P. olfersii*. Bootstrap 1000 replicações. (coef. corr. = 0,81).



## Capítulo III

Evolução dos parâmetros bioacústicos do canto de anúncio do gênero

*Physalaemus* (Anura; Leptodactylidae)

Silva, R.A.<sup>1</sup>; Martins, F.O.<sup>2</sup> & Martins, I.A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Pós-Graduação em Biologia Animal, UNESP. Rua Cristóvão Colombo, 2265, Jardim Nazareth, 15054-000, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil.

E-mail: [silva7554@yahoo.com.br](mailto:silva7554@yahoo.com.br)

<sup>2</sup> Pós-Graduação em Biologia Animal, UNESP. Rua Cristóvão Colombo, 2265, Jardim Nazareth, 15054-000, São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil.

E-mail: [fernanda\\_martins2@hotmail.com](mailto:fernanda_martins2@hotmail.com)

<sup>3</sup> Instituto Básico de Biociências - Laboratório de Zoologia – UNITAU. Av. Tiradentes, 500, Jardim das Nações, 12030-180, Taubaté, São Paulo, Brasil.

E-mail: [istama@uol.com.br](mailto:istama@uol.com.br)

## Resumo

Nos anuros, a emissão de sinais acústicos envolve os mesmos mecanismos de produção, e as variações são restritas ao tamanho e forma das estruturas comuns. Contudo, os sinais bioacústicos podem não responder da mesma forma à seleção natural, mesmo em espécies congênicas de anuros. Nosso objetivo foi comparar e sinalizar os padrões de evolução nos parâmetros espectrais e temporais do canto de anúncio para os três táxons de espécies de anuros do gênero *Physalaemus*. Nossos dados demonstram que os parâmetros espectrais do canto evoluem similarmente nos três grupos, com gradual decréscimo nas frequências dos cantos entre a espécie basal e as espécies terminais. Todos os parâmetros espectrais apresentaram-se mais conservadores tendo forte influência filogenética, assim como parâmetros temporais das espécies que ocorrem em mata (grupos *P. signifer* e *P. olfersii*). Os parâmetros do canto são mais conservativos ou mais similares entre espécies próximas. Esses parâmetros podem estar mais relacionados a caracteres morfológicos que influenciam diretamente o canto, como o tamanho corporal e a estrutura da laringe. Já para as espécies de área aberta do grupo *P. cuvieri*, os parâmetros temporais como duração e taxa de repetição da nota mostraram divergência. Os parâmetros temporais, com valores mais flexíveis, são influenciados por fatores ambientais ou condições de comportamento social. Em ambientes abertos os parâmetros temporais bioacústicos necessitam percorrer longas distâncias em relação a ambientes fechados, onde espécies de anuros utilizam comunicação a curtas distâncias. Entretanto, são necessários mais estudos para determinar se outros fatores estão influenciando a evolução do canto de anúncio.

Palavras-chave: vocalização, filogenia, caracteres comportamentais, espécies crípticas, parâmetros espectrais, parâmetros temporais.

## Abstract

In the anurans, the acoustic signals emission involves the same production mechanisms, and the variations are limited to size and shape of ordinary structures. However, the bioacoustic signals may not respond to the natural selection in the same manner, even in congeneric anuran species. Our goal was to compare and analyze the transformations in temporal and spectral parameters of advertisement calls for the three taxa of *Physalaemus* genus. Our data showed that the calls spectral parameters evolved similarly within the three groups, with gradual diminishment in call frequency between basal and terminal species. All spectral parameters were more conservative having strong phylogenetic influence, as the temporal parameters for forest distribution species (groups *P. signifier* and *P. olfersii*). These call parameters are more conservative, or more similar, between close species. These parameters may be more related to morphological features than directly influence cantus such as body size and larynx structure. On the other hand, in the open area species of *P. cuvieri* group, temporal parameters such as note length and note frequency showed divergence. The temporal parameters, with more flexible values, are influenced by environmental factors or social behavior conditions. In wide, open areas habitats, the bioacoustics temporal parameters may need to reverberate through long distances when compared to closed environments, where certain species make use of short distances communication. However, further studies are required in order to determine if other factors affect advertisement call evolution.

Keywords: vocalization, phylogeny, behavioral characters, cryptic species, spectral parameters, temporal parameters

## **Introdução**

Muitos animais dependem de comunicação acústica para o sucesso reprodutivo e sobrevivência. Os estudos de laboratório e de campo mostraram a importância dos sinais de comunicação para a seleção natural e, mais amplamente, para a evolução e diversificação de táxons (Whitman, 1899; Lorenz, 1941; Tinbergen, 1959; Huxley, 1966, Brooks & McLennan, 1991; Cocroft & Ryan, 1995; Gerhardt & Huber, 2002). Os caracteres comportamentais podem ser definidos como quaisquer outros caracteres morfológicos ou moleculares, apresentando os mesmos problemas e requisitos (Wenzel, 1991; Greene, 1994; Grandcolas *et al.*, 2001; Brooks e McLennan, 2002; Stuart *et al.*, 2002; Desutter-Grandcolas & Robillard, 2003; Desutter-Grandcolas *et al.*, 2003).

Os padrões de evolução comportamental foram um foco importante no início da etologia e muitas destas literaturas mostram a interação entre comportamento e sistemática, lançando as bases para uma tradição de estudos comparativos na evolução do comportamento (Whitman, 1899; Milne & Milne, 1939; Lorenz, 1941; Spieth, 1947; Tinbergen, 1959; Johnsgard, 1961; Evans, 1962; Van Tets, 1965; Huxley, 1966; Otte, 1970). Muito deste interesse foi motivado pela falta de uma estrutura filogenética adequada, o que pode representar problemas em estudos comparativos. Sem informações sobre a filogenia não era possível estimar o número verdadeiro de eventos evolutivamente independentes. Assim, tamanhos de amostras podem ser superestimados e conclusões basearem-se em inferência estatística inadequada (Ridley, 1983; Felsenstein, 1985). Recentemente, cresceu o interesse entre os ecologistas comportamentais na condução de estudos comparativos dentro de um contexto explicitamente filogenético (Brooks & McLennan 1991; Cocroft & Ryan, 1995; Vences *et al.*, 2003; Robillard *et al.*, 2006).

Conjuntamente com o desenvolvimento de métodos mais confiáveis de reconstrução filogenética e a utilização de filogenia para testar hipóteses evolucionárias, uma abordagem comparativa é utilizada para extrapolar resultados populacionais na comunicação acústica, geralmente, otimizando os caracteres do sinal bioacústico e posteriormente comparando os padrões de transformação sobre a filogenia (Basolo, 1990; 1995; Ryan & Rand, 1993). Em essência, esses estudos procuram interpretar a história evolutiva (e.g., homologias, homoplasias, ponto de origem, sequência de transformação) e o contexto adaptativo (associação/correlações entre caracteres) de caracteres morfológicos e comportamentais, tendo como base hipóteses filogenéticas (topologias) e dados interespecíficos (Maddison & Maddison, 1992; Diniz-Filho, 2000; Autumn, *et al.*, 2002, Brooks & McLennan, 2002; Grandcolas & D’Haese, 2003). A série de transformação dos caracteres com melhor suporte (mais parcimoniosa) pode ser determinada em relação a uma dada topologia por procedimentos de otimização com análises estatísticas ou de maneira puramente qualitativa em decorrência da carência de dados interespecíficos e/ou topologias (Harvey & Pagel, 1991; Maddison & Maddison, 1992; Brooks & McLennan, 2002). Além disso, o sinal filogenético de caracteres comportamentais pode ser utilizado também no estabelecimento de inter-relações filogenéticas (De Queiroz & Wimberger, 1993; Brooks & McLennan, 2002; Grant *et al.*, 2006).

O comportamento de vocalização e o sistema sensorial desenvolvido na percepção do canto foram extensivamente estudados, tornando-se um dos melhores modelos de sistema de compreensão da comunicação animal (Vielliard, 1983; Fritsch *et al.*, 1988; McClelland *et al.*, 1996; Wilczynski *et al.*, 2001; Gerhardt & Huber, 2002; Gridi-Papp *et al.*, 2006). Nesse contexto, os sinais bioacústicos dos anuros constituem bons padrões de comportamento para estudos comparativos (Wells, 2007).

Na maioria das famílias de anuros, o sistema do canto envolve os mesmos músculos, cartilagens e membranas, e a maioria das variações é restrita ao tamanho e forma das estruturas comuns (Trewavas, 1933; Schmid, 1976; Gridi-Papp *et al.*, 2006). Cada emissão sonora corresponde a um ciclo de inalação-exalação. O mecanismo básico de produção de som é semelhante na maioria dos anuros e consiste em um mecanismo de respiração modificada (Martin & Gans, 1972; Schneider, 1988), com algumas exceções da família Pipidae (Rabb, 1960; Yager, 1992, Tobias, 1994; Fernandes, 2010). A noção de "nota", que se refere à quantidade total de energia do som gerada durante um único ciclo de fluxo de ar (McLister *et al.*, 1995), é uma unidade bioacústica apropriada para usar ao comparar a produção de som em anuros. Contudo, as nota e outros sinais bioacústicos podem não responder da mesma forma à seleção natural, mesmo em espécies estreitamente relacionadas entre anuros. Como discutido por McLister *et al.* (1995), McLister (2001) e Gridi-Papp (2003), a estrutura do canto de anuros pode corresponder uma única nota ou uma repetição de notas. Além disso, as notas podem ser moduladas em amplitude, frequência ou em ambos (Martin, 1971). É, portanto, simples a relação entre os sinais bioacústicos em determinados grupos que usam mecanismos estereotipados de produção de som (Cocroft & Ryan, 1995).

Os estudos relacionados ao gênero *Physalaemus* desenvolvido por Nascimento *et al.* (2005) resultou em uma revisão taxonômica dos gêneros *Physalaemus*, *Eupemphix* e *Engystomops*. Os anuros, do gênero *Physalaemus* Fitzinger, 1826 pertencente à família Leptodactylidae (Pyron & Wiens, 2011) é formado por 45 espécies crípticas separadas em sete grupos: *P. albifrons*, *P. cuvieri*, *P. deimaticus*, *P. henselii*, *P. gracilis*, *P. olfersii*, *P. signifer*, diferenciados a partir de caracteres morfológicos, osteológicos e de coloração da pele (Nascimento *et al.*, 2005). Há trabalhos que relacionam as espécies de *Engystomops* quanto a sua filogenia (Heyer 1974; 1975; Cannatella & Duellman

1984; Cannatella *et al.*, 1998; Tárano & Ryan 2002; Ron *et al.*, 2006), inclusive com o uso de aloenzimas (Cannatella *et al.*, 1998) e sugerem que o gênero possui dois grupos monofiléticos: o grupo *Physalaemus pustulosus* (atual gênero *Engystomops*) e as demais espécies de *Physalaemus*; bem como há incerteza sobre a monofilia do gênero (Grant *et al.*, 2006; Pyron & Wiens, 2011). Além disso, alguns trabalhos demonstram a proximidade dos *Physalaemus* com o gênero *Pseudopaludicola* (Barrio, 1965; Ron *et al.*, 2006; Pyron & Wiens, 2011) dentro da família Leptodactylidae (Pyron & Wiens, 2011).

No presente estudo, focamos as análises do canto de anúncio de três grupos de espécies diretamente relacionadas de *Physalaemus*. Nosso primeiro objetivo foi comparar e sinalizar as transformações nos parâmetros espectrais e temporais do canto para os três táxons conjuntamente e, em segundo lugar, projetar a filogenia baseada em todos os caracteres bioacústicos para cada táxon. Com tratamentos filogenéticos e a otimização dos caracteres com auxílio de um grupo externo, é possível examinar seus padrões de transformações e de abordar questões sobre a importância filogenética de caracteres comportamentais e sobre a evolução do sinal.

## **Metodologia**

Os estudos foram concentrados em espécies (n=28) de três clados do gênero *Physalaemus*. O grupo *P. cuvieri* é formado por nove espécies: *P. albonotatus* (Steindachner, 1864), *P. centralis* Bokermann, 1962, *P. cicada* Bokermann, 1966, *P. cuqui* Lobo, 1993, *P. cuvieri* Fitzinger, 1826, *P. ephippifer* (Steindachner, 1864), *P. erikae* Cruz & Pimenta, 2004, *P. fischeri* (Boulenger, 1890) e *P. kroyeri* (Reinhardt & Lütken, 1862). As espécies do grupo *P. signifer* (n=12) são: *P. atlanticus* Haddad & Sazima, 2004, *P. bokermanni* Cardoso & Haddad, 1985, 1997, *P. crombiei* Heyer &



Wolf, 1989, *P. irroratus* Cruz, Nascimento & Feio, 2007, *P. maculiventris* (Lutz, 1925), *P. moreirae* (Miranda-Ribeiro, 1937), *P. nanus* (Boulenger, 1888), *P. obtectus* Bokermann, 1966, *P. signifer* (Girard, 1853) e *P. spiniger* (Miranda-Ribeiro, 1926) (Nascimento *et al.*, 2005). O grupo *P. olfersii*, é composto por oito espécies: *P. aguirrei* Bokermann, 1966, *P. soaresi* Izecksohn, 1965, *P. maximus* Feio, Pombal & Caramaschi, 1999, *P. olfersii* (Lichtenstein & Martens, 1856), *P. lateristriga* (Steindachner, 1864), *P. feioi* Cassini, Cruz & Caramaschi, 2010 e *P. orophilus* Cassini, Cruz & Caramaschi, 2010. Não foi obtido dados de *P. caeté* Pombal & Madureira, 1997 (grupo *P. signifer*) e de *P. insperatus* Cruz, Cassini & Caramaschi (grupo *P. olfersii*) (Frost, 2012). A descrição dessas últimas espécies foi baseada em espécimes tombados em museu, não sendo encontrado mais na localidade tipo ou a localidade tipo não existe mais (Pombal Jr. em comunicação pessoal). O canto da espécie *Pseudopaludicola mystacalis* (Cope, 1887) foi incluído na análise como grupo externo (Pyron & Wiens, 2011) para os tratamentos filogenéticos.

#### DADOS ACÚSTICOS

Foram analisados dez parâmetros acústicos de todas as espécies estudadas como: a frequência mínima, máxima e dominante, além da duração da nota e intervalo entre as notas, duração e número de pulsos e a taxa de repetição da nota, extraídos da literatura (ver Cap. I). Os dados obtidos (Tab. I) foram transformados para a construção das árvores filogenéticas (categorizados a partir de parâmetros obtidos a partir do Capítulo II) (Tab. II). No total foram utilizados 10 caracteres, numerados de 0 a 9 e, analisados em 28 táxons terminais pertencentes ao gênero *Physalaemus* e um ao gênero *Pseudopaludicola*. (Tab. II).

#### ANÁLISE FILOGENÉTICA

A análise filogenética seguiu a metodologia de Hennig (1966, 1968), que reconhece os táxons apenas com base na posse e compartilhamento de novidades evolutivas únicas, as sinapomorfias, tornando-os constituintes de um grupo monofilético. Aplicamos critérios de homologia (Atz, 1970; Mundinger, 1979; Wenzel, 1991; Price & Lanyon, 2002; Desutter-Grandcolas & Robillard, 2003) da mesma forma como em caracteres morfológicos. Estes critérios são: (1) relativa semelhança de posição e qualidade, (2) especial e (3) a continuidade por meio de formas intermediárias (Remane, 1952). Em comparações comportamentais, a "posição" pode ser interpretada como a posição temporal de um som ou movimento em uma sequência de comportamentos (Tinbergen, 1959). Assim, este critério mostra que o parâmetro que tem o mesmo contexto comportamental ou exibe a mesma posição relativa, pode ser usado como hipótese para homologia em diferentes espécies. De acordo com o critério da "qualidade especial" sons ou comportamentos que são altamente estereotipados e que compartilham detalhes complexos, são mais susceptíveis de serem homólogos do que aqueles que são relativamente simples e variáveis (Slikas, 1998). A presença de "formas intermediárias" nos padrões de evolução vocal também é fortemente indicativa de homologia e pode ajudar na identificação de componentes do sinal que são relativamente derivado ou ancestral.

O objetivo deste estudo, claramente, não foi reconstruir a filogenia dos *Physalaemus* usando apenas caracteres do canto, mas sim estimar a consistência filogenética de cada parâmetro de codificação e comparar os resultados com a classificação taxonômica atual (Nascimento *et al.*, 2005).

As matrizes geradas com os parâmetros de todas as espécies e com cada clado estudado do gênero *Physalaemus* foram analisadas no *software* TNT versão 1.1 (Goloboff *et al.*, 2008), executado com *Asado Winclada* (Nixon, 2002), no qual a busca

das relações filogenéticas foi investigada usando análise de parcimônia. Para a obtenção da árvore mais parcimoniosa realizou-se uma busca heurística por meio das novas tecnologias, utilizando-se *ratchet* (com 30 interações) e *drift* (com 50 interações) com adição randômica de táxons, 1.000 réplicas, retenção máxima de 10.000 árvores, e colapsamento após a busca. A partir das árvores igualmente mais parcimoniosas foi construída uma árvore de consenso estrito.

## Resultados

### FILOGENIA ENTRE OS GRUPOS

A análise filogenética do canto de anúncio, para os três grupos de espécies do gênero *Physalaemus*, mostrou *P. bokermanni* como a espécie mais basal para o grupo (Fig. 1). As demais espécies formaram um grupo monofilético (clado 1), sustentado por três sinapomorfias: frequência máxima entre 3,5 e 3,99 kHz (parâmetro 0, estado 4); frequência mínima entre 1 e 1,49 kHz (parâmetro 1, estado 3) e frequência dominante entre 2,5 e 2,99 kHz (parâmetro 2, estado 4). Esses parâmetros se mostraram bastante divergentes dentro do clado 1 e, apresentaram diversas reversões nos ramos terminais com politomias, impedindo o estabelecimento de relações filogenéticas entre as demais espécies.

Mas, a partir da topologia encontrada, foi possível verificar um padrão na evolução de parâmetros como o número de notas por canto e a presença ou ausência de harmônicos na nota. A espécie basal, *P. bokermanni*, apresentou o canto contendo notas repetitivas sem harmônicos, com o grupo irmão apresentando notas repetitivas com harmônicos e, nas espécies terminais, o canto foi composto por notas simples com e sem harmônicos com reversão em *P. nanus*, *P. obtectus* e *P. irroratus* (Fig. 1).

### GRUPO *P. CUVIERI*

A análise filogenética para o grupo *P. cuvieri* mostrou *P. cicada* como espécie mais basal para o grupo (Fig. 2). As demais espécies analisadas formaram um grupo monofilético (clado 1) sustentado por seis sinapomorfias: frequência máxima entre 3,5 e 3,99 kHz (parâmetro 0, estado 4); frequência mínima entre 0,5 e 0,99 kHz (parâmetro 1, estado 1); frequência dominante entre 2,5 e 2,99 kHz (parâmetro 2, estado 4); canto composto por mais de uma nota (parâmetro 3, estado 1); 101 a 400 pulsos por nota (parâmetro 8, estado 1); e 51 a 60 notas por minuto (parâmetro 9, estado 5). Dentro deste clado algumas relações ainda aparecem como incertas, entretanto, foi possível afirmar que *P. kroyeri* apareceu como grupo-irmão das demais espécies (clado 2), suportado por apenas uma sinapomorfia: frequência mínima entre 0,1 e 0,49 kHz (parâmetro 1, estado 0). Ainda dentro desse grupo, *P. centralis* e *P. cuvieri* foram recuperadas como um grupo monofilético (clado 3), sustentado por duas sinapomorfias: frequência máxima entre 2,5 e 2,99 kHz; e taxa de repetição entre 61 e 100 notas por minuto (parâmetro 9, estado 6). Da mesma forma, *P. ephippifer*, *P. erikae*, *P. albonotatus* e *P. cuqui* (clado 4) também constituíram um grupo monofilético sustentado por duas sinapomorfias: intervalo entre as notas de 3 a 4,99 milissegundos (parâmetro 6, estado 3 e 4) e taxa de repetição entre 11 e 20 notas por minuto (parâmetro 9, estado 1). Dentro desse último clado (clado 4) as relações entre as espécies são incertas, porém *P. albonotatus* e *P. cuqui* (clado 5) são recuperados como táxons irmãos baseado em duas sinapomorfias: duração da nota entre 1 e 1,49 milissegundos (parâmetro 5, estado 2); e 101 a 400 pulsos por notas (parâmetro 8, estado 2).

A partir da topologia encontrada foi possível verificar que a evolução de alguns componentes do canto ocorreu de maneira gradual, como o número de notas (Fig. 2). Apenas *P. cicada* tem o canto formado por mais de uma nota, repetitivas, enquanto

todas as demais espécies apresentam canto simples, formado por uma única nota. Também foram verificados os decréscimos da frequência máxima, mínima e dominante, com poucos eventos de reversão, como o aumento da frequência máxima em *P. erikae*. Por fim, foi possível verificar uma divergência dentro do grupo com relação à taxa de repetição da nota, enquanto no clado de *P. cuvieri* e *P. centralis* ocorreu um aumento da taxa de repetição de 51 a 60 notas por minuto (condição sinapomórfica para todo o grupo, exceto para *P. cicada*) para 61 a 100 notas por minuto, no o grupo formado por *P. ephippifer*, *P. erikae*, *P. albonotatus* e *P. cuqui* ocorreu uma redução na taxa para 11 a 20 notas por minuto. Outra divergência verificada foi com relação ao número de pulsos, o clado formado por *P. albonotatus* e *P. cuqui* apresentou um aumento de pulsos de 101 a 400 (condição sinapomórfica para todo o grupo, exceto para *P. cicada*) para 401 a 999 pulsos por nota, enquanto que para *P. centralis* e *P. ephippifer* houve a diminuição de pulsos para 1 a 100 pulsos por nota.

#### GRUPO *P. OLFERSII*

A topologia para o grupo *P. olfersii* mostra uma relação incerta na base do cladograma, podendo ser mais basais as espécies *P. feioi* ou *P. orophilus* (Fig. 3). As demais espécies analisadas formaram um grupo monofilético (clado 1) sustentado por quatro sinapomorfias: uma nota por canto (parâmetro 3, estado 1); intervalo entre as notas de 1 a 1,99 milissegundos (parâmetro 6, estado 1); número de pulsos entre 101 e 400 pulsos por nota (parâmetro 8, estado 1); e de 41 a 50 pulsos por nota (parâmetro 9, estado 4). Dentro desse clado foi possível relacionar as espécies, onde *P. aguirrei* foi o grupo-irmão das demais espécies (clado 2), suportado por quatro sinapomorfias: duração da nota entre 3 e 3,49 milissegundos (parâmetro 5, estado 3); intervalo entre as notas de 2 e 2,99 milissegundos (parâmetro 6, estado 2); com 401 a 999 pulsos por nota (parâmetro 8, estado 2); e 0,1 a 20 notas por minuto (parâmetro 9, estado 0 e 1). O clado

2 apresentou *P. soaresi* como grupo-irmão das demais espécies (clado 3), suportado por duas sinapomorfias: frequência máxima entre 2,5 e 2,99 kHz (parâmetro 0, estado 2); e duração da nota entre 2 e 3,49 kHz (parâmetro 5, estado 4,5 e 6). O clado 3 apresentou *P. olfersii* como grupo-irmão de *P. lateristriga* e *P. maximus* (clado 4), formando um grupo monofilético e sustentado por duas sinapomorfias : frequência mínima entre 0,5 e 0,99 kHz (parâmetro 1, estado 1) e frequência dominante entre 1,5 e 1,99 kHz (parâmetro 2, estado 2).

A partir da árvore filogenética encontrada foi possível verificar o acréscimo gradual de parâmetros como o intervalo entre as notas, taxa de repetição da nota e número de pulsos por nota, este último parâmetro com um evento de reversão, em *P. maximus*, onde houve um decréscimo do parâmetro. Há decréscimo gradual dos valores para os parâmetros: frequências máxima, mínima e dominante, sem eventos de reversão (Fig. 3).

#### GRUPO *P. SIGNIFER*

A análise filogenética para o grupo *P. signifer* mostrou *P. bokermanni* como espécie mais basal para o grupo (Fig. 4). As demais espécies analisadas formaram um grupo monofilético (clado 1) sustentado por quatro sinapomorfias: frequência máxima entre 3 e 3,49 kHz (parâmetro 0, estado 3); frequência mínima entre 1 e 1,49 kHz (parâmetro 1, estado 2); frequência dominante entre 1,5 e 1,99 kHz (parâmetro 2, estado 2); taxa de repetição entre 41 e 50 notas por minuto (parâmetro 9, estado 4). Dentro desse clado algumas relações ainda são incertas, contudo, foi possível afirmar que *P. nanus* e *P. spiniger* foram recuperadas como um grupo monofilético (clado 2), sustentado por quatro sinapomorfias: frequência mínima entre 0,5 e 0,99 kHz (parâmetro 1, estado 1); ausência de harmônicos na nota (parâmetro 4, estado 1); intervalo entre as notas entre 2 e 2,99 milissegundos (parâmetro 6, estado 2); e taxa de

repetição entre 21 e 30 notas por minuto (parâmetro 9, estado 2). Esse clado aparece como grupo-irmão das demais espécies do grupo (clado 3) sustentado por apenas uma sinapomorfia: frequência máxima entre 2 e 2,49 kHz (parâmetro 0, estado 1). Dentro do clado 3, *P. irroratus* apareceu como grupo-irmão das demais espécies (clado 4), também sustentado por uma sinapomorfia: frequência dominante entre 1 e 1,49 kHz (parâmetro 2, estado 1). E, dentro do clado 4, a espécie *P. obtectus* foi grupo-irmão das demais espécies (clado 5), sustentado por quatro sinapomorfias: frequência máxima entre 1,5 e 1,99 kHz (parâmetro 0, estado 0); frequência mínima entre 0,5 e 0,99 kHz (parâmetro 1, estado 1); canto formado por uma nota (parâmetro 3, estado 1); e duração da nota entre 0,5 e 0,99 milissegundos (parâmetro 5, estado 1). A politomia formada no clado 5 tornou incerta as relações entre os parâmetros do canto dessas espécies.

Por meio da topologia encontrada foi possível verificar que a evolução dos componentes do canto de anúncio parece ter ocorrido de maneira gradual (Fig. 4). O primeiro desses aspectos se referiu ao número de notas, em que as espécies basais apresentaram canto com mais de uma nota e, no clado 5, o canto é formado por uma nota, com ou sem harmônicos. Também foi verificado o decréscimo das frequências máxima, mínima e dominante, bem como a taxa de repetição da nota, com um evento de reversão no aumento da taxa de repetição da nota em *P. crombiei*. Não houve divergência, nesse grupo, com relação aos parâmetros espectrais e temporais dos cantos.

## **Discussão**

Para desenvolver a interpretação dos resultados obtidos, foram considerados como monofiléticos os grupos propostos na literatura (Nascimento *et al.*, 2005). Assim, nossos resultados evidenciam, em cada clado estudado, que os parâmetros bioacústicos do canto de anúncio são filogeneticamente conservados nas 28 espécies (56% do total)

do gênero *Physalaemus*. Esse resultado deve-se à proximidade filogenética, compartilhando características morfológicas, como resultados de uma ancestralidade em comum (Cocroft & Ryan, 1995; Gerhardt & Huber, 2002).

Os parâmetros espectrais, frequências máxima, mínima e dominante sofrem transformações graduais com decréscimo da frequência a partir das características basais de cada grupo, de maneira convergente entre os clados, sem divergências dos valores. Este fato corrobora a hipótese de que o canto é restrito pela história evolutiva das linhagens filogenéticas (Cocroft & Ryan, 1995; Bosch & De La Riva, 2004; Wells, 2007). Esses parâmetros espectrais podem estar mais relacionados a caracteres morfológicos que influenciam diretamente o canto (Blomberg *et al.*, 2003), tendo também um forte sinal filogenético (Blomberg *et al.*, 2003), como o tamanho corporal (Penna & Solis, 1998; Silva *et al.*, 2008) e a estrutura da laringe (Martin, 1972; Gridi-Papp *et al.*, 2006). Com isso, muitos parâmetros do canto, como harmônicos e frequência dominante, tendem a ser conservativos ou mais similares entre espécies próximas (Cocroft & Ryan, 1995). Este fato pode explicar a estruturação filogenética no canto das espécies analisadas. E, desta forma, as restrições filogenéticas podem limitar a evolução do canto (Zimmermann, 1983; Ryan & Brenowitz, 1985; Bosch & De La Riva, 2004).

Os parâmetros temporais têm alterações graduais nos valores da taxa de repetição e na duração da nota nos grupos *P. signifer* e *P. olfersii* a partir das características basais do grupo. Já para o grupo *P. cuvieri*, nesses parâmetros temporais há divergências dos valores entre as espécies. Nesse clado, essas divergências encontradas nos parâmetros temporais podem refletir a seleção ambiental, em que as diferenças nas características do ambiente afetam as propriedades para otimizar a emissão e propagação do sinal acústico (Slabbekoorn & Smith, 2002; Bosch & De La



Riva, 2004). O ambiente pode exercer uma forte pressão no canto emitido por diferentes tipos de organismos (e.g., Zimmermann, 1983; Wiley, 1991; Slabbekoorn & Smith, 2002). Os efeitos do ambiente na evolução da estrutura do canto podem ser de atenuação, degradação e distorção do sinal por ruídos ambientais (Morton, 1975; Waser & Brown, 1986; Wells, 2007; Bradbury & Vehrencamp, 2011). Os cantos de espécies que habitam ambientes de floresta têm maior atenuação e degradação que espécies de área aberta (Ryan & Brenowitz, 1985; Wells & Schwartz, 1982), assim como espécies que emitem cantos ao nível do solo têm maior degradação do que cantos emitidos acima do solo (Kime *et al.*, 2000). Uma possível explicação para o efeito do ambiente nesses parâmetros bioacústicos do grupo *P. cuvieri* é que esses cantos podem necessitar percorrer longas distâncias em área aberta (Kime *et al.*, 2000) em relação às características ambientais que utilizam comunicação à curtas distâncias (Brenowitz, 1982). Entretanto, são necessários mais estudos para determinar se outros fatores estão influenciando a evolução do canto de anúncio, levando em consideração também fatores comportamentais e emprego de parâmetros ambientais que representem uma caracterização dos habitats ocupados por essas espécies. Desta forma, os parâmetros espectrais do canto devem ter um forte sinal filogenético por estarem diretamente relacionados ao reconhecimento intraespecífico. Por outro lado, os parâmetros temporais podem ser mais plásticos, refletindo as condições ambientais. O baixo sinal filogenético pode ter, por exemplo, um papel importante também na escolha do parceiro, devendo ser mais evolutivamente lábil. No entanto, um estudo recente de simulação (Revell *et al.*, 2008) sugere que um baixo sinal filogenético não implica necessariamente em alta responsabilidade evolutiva, salientando a necessidade de dados empíricos adicionais.

A polarização dos dados através do grupo externo pode apontar a provável direção dos caracteres acústicos em cada clado. Mas a origem dos parâmetros, como o canto de uma nota ser plesiomórfico ao canto com mais de uma nota, não pode ser apontado devido à insuficiência de árvores filogenéticas que confirmem as relações entre as espécies.

Atualmente duas hipóteses são sugeridas para explicar a evolução do canto em anuros. A hipótese filogenética prediz que espécies mais próximas filogeneticamente tendem a possuir cantos similares, independente do ambiente (Wells, 2007). A hipótese de seleção ambiental é de que diferenças nas características do habitat afetam as propriedades bioacústicas do canto, ocorrendo divergência nos parâmetros (Bosch & De La Riva, 2004). Diversos trabalhos dão suporte a uma única dessas hipóteses acima citadas (Ryan & Brenowitz 1985; Ryan, 1986; 1988; Penna & Solís, 1998; Kime *et al.*, 2000). Mas essas hipóteses não são excludentes (Bosch & De La Riva, 2004). A influência de pressões diferentes agindo sobre o canto pode ser vista na topologia com todas as espécies estudadas (Fig.1). Apesar de sofrer influência filogenética, observada em alguns agrupamentos que reuniram espécies de mesmo grupo. Porém, não agrupou todas as espécies em seus respectivos grupos, mostrando que outros fatores também agem como pressão seletiva, podendo ser a influência do habitat agindo sobre os parâmetros do canto.

As diversas politomias demonstram a insuficiência de parâmetros bioacústicos para diagnosticar as relações entre todas as espécies estudadas conjuntamente (Cannatella *et al.*, 1998), apesar de se mostrarem eficientes para cada clado isoladamente. A utilização de parâmetros sem significado ou importância para a comunicação deve ser considerada (Hödl & Améquta, 2001), apesar dos parâmetros usados serem amplamente utilizados em estudos bioacústicos, porém para outras

espécies. Fato esse que pode ter influenciado os resultados de incongruência em trabalhos comparando a filogenia comportamental com a árvore filogenética molecular (Robillard *et al.*, 2006).

Outros estudos de padrões dos sinais bioacústicos em grupos taxonomicamente próximos, mostrando divergências em sinais de comunicação, podem nos dizer quais os parâmetros bioacústicos são mais susceptíveis de alteração evolutiva (Ryan, 1988); podendo fornecer um contexto para futuras pesquisas sobre os processos envolvidos nessa divergência (Basolo, 1990; Prum, 1990; Proctor, 1993; Ryan & Rand, 1993b). Saber quais padrões realmente caracterizam a evolução dos sinais de comunicação deve nos guiar para fazer as perguntas corretas sobre os processos que as produziram.

## **Conclusões**

Até onde sabemos, esse foi um raro estudo a utilizar esse número expressivo de espécies utilizando métodos comparativos filogenéticos com dados comportamentais, na modulação dos parâmetros acústicos. Verificamos que os parâmetros bioacústicos utilizados foram satisfatórios para demonstrar o padrão de evolução em cada clado. Porém, foram insuficientes para demonstrar algum padrão evolutivo quando os clados foram agrupados. Todos os parâmetros espectrais apresentaram-se mais conservadores tendo forte influência filogenética, bem como parâmetros temporais das espécies que ocorrem em mata (grupos *P. signifer* e *P. olfersii*); enquanto que parâmetros temporais como duração e taxa de repetição da nota, de espécies de área aberta, mostraram valores mais flexíveis influenciado por fatores ambientais ou condições de comportamento social.

## **Agradecimentos**

Agradeço aos doutores Adrian Garda, Bruno V. S. Pimenta, Célio F. B. Haddad, Diego Baldo, Luciana B. Nascimento, Marcelo F. Napoli, Michel J. Ryan, Sérgio Potch Carvalho-e-Silva, Zaida Tárano, Jorge Jim (*in memorian*) e aos Msc. André Pansonato e Carla S. Cassini por disponibilizar as gravações dos cantos. Agradeço à Dra. Denise de Cerqueira Rossa-Feres por disponibilizar o Laboratório de Ecologia do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Unesp de São José do Rio Preto – SP e ceder materiais para o desenvolvimento dos estudos. Agradeço também a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo suporte financeiro.

### **Referências**

- Atz, J.W. 1970. The application of the idea of homology to behavior. *Z. Tierpsychol.* (20): 53-74.
- Autumn, K.; Ryan, M.J. & Wake, D.B. 2002. Integrating historical and mechanistic biology enhances the study of adaptation. *Quart. Rev. Biol.* 77(4): 383-408.
- Barrio, A. 1965. El género *Physalaemus* (Anura, Leptodactylidae) en la Argentina. *Physis* (25): 421-448.
- Basolo, A.L. 1990. Female preference predates the evolution of the sword on swordtail fish. *Science* (250): 808-810.
- Basolo, A.L. 1995. A further examination of a pre-existing bias favoring a sword in the genus *Xiphophorus*. *Anim. Behav.* (50): 365-375.
- Blomberg, S.P.; Garland, T.Jr. & Ives, A.R. 2003. Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. *Evolution* (57): 717-745.
- Bosch, J. & De La Riva, I. 2004. Are frog calls modulated by the environment? An analysis with anuran species from Bolívia. *Can. J. Zool.* (82): 880-888.

- Bradbury, J.W. & Vehrencamp, S.L. 2011. Principles of animal communication, 2<sup>nd</sup> edn, Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA: 654pp.
- Brenowitz, E.A. 1982. Long range communication of species identity by song in the red-winged blackbird. *Behav. Ecol. Sociobiol.* (10): 29-38.
- Brooks, D.R. & McLennan, D.A. 1991. *Phylogeny, Ecology and Behavior*. University of Chicago Press, Chicago: 434pp.
- Brooks, D.R. & McLennan, D.A. 2002. *The nature of biodiversity. An evolutionary voyage of discovery*. The University of Chicago Press, Chicago, IL: 678pp.
- Cannatella, D.C. & Duellman, W.E. 1984. Leptodactylid frogs of the *Physalaemus pustulosus* group. *Copeia* (4): 902-921.
- Cannatella, D.C.; Hillis, D.M.; Chippindale, P.T.; Weigt, L.; Rand, A.S. & Ryan, M.J. 1998. Phylogeny of frogs of the *Physalaemus pustulosus* species group, with an examination of data incongruence. *Syst. Biol.* (47): 311-335.
- Cocroft, R.B. & Ryan, M.J. 1995. Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs. *Anim. Behav.* (49): 283-303.
- De Queiroz, A. & Wimberger, P.H. 1993. The usefulness of behavior for phylogeny estimation: levels of homoplasy in behavioral and morphological characters. *Evolution* (47): 46-60.
- Desutter-Grandcolas, L. & Robillard, T. 2003. Phylogeny and the evolution of calling songs in *Gryllus* (Insecta, Orthoptera, Gryllidae). *Zool. Scr.* (32): 173-183.
- Desutter-Grandcolas, L.; D'Haese, C. & Robillard, T. 2003. The problem of characters susceptible to parallel evolution in phylogenetic analysis: a reply to Marques & Gnaspini (2001) with emphasis on cave life phenotypic evolution. *Cladistics* (19): 131-137.

- Diniz-Filho, J.A.F. 2000. Métodos filogenéticos comparativos. Holos Editora. Ribeirão Preto, SP: 162pp.
- Evans, H.E. 1962. The evolution of prey-carrying mechanisms in wasps. *Evolution*, (16): 468-483.
- Felsenstein, J. 1985. Phylogenies and the comparative approach. *Amer. Natur.* (125): 1-15.
- Fernandes, M.F. 2010. Avaliação de ventilator pattern in the toad *Rhinella schneideri* (Anura: Bufnidae). *Nucleus Animalium* 2(2): 61-66.
- Frittsch, B.; Ryan, M. J.; Wilczynski, W.; Hetherington, T. E. & Walkowiak, W. (Eds.) 1988. *The Evolution of the Amphibian Auditory System*. New York, John Wiley: 1313pp.
- Frost, D.R. 2012. *Amphibian Species of the World: An online reference*. V.5.1. Disponível em: <<http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>>. American Museum of History, New York, USA.
- Gerhardt, H.C. & Huber, F. 2002. *Acoustic communication in insects and anurans*. The University of Chicago Press, Chicago and London: 531pp.
- Goloboff, P.A.; Farris, J.S. & Nixon, K.C. 2008. TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics* (24): 774-786.
- Grandcolas, P. & D'Haese, C. 2003. Testing adaptation with phylogeny: how to account for phylogenetic pattern and selective value together. *Zoologica Scripta* 32(5): 483-490.
- Grandcolas, P.; Deleporte, P.; Desutter-Grandcolas, L. & Dauteron, C. 2001. Phylogenetics and Ecology: As many characters as possible should be included in the cladistic analysis. *Cladistics* 17(1): 104-110.

- Grant, T.; Frost, D.R.; Caldwell, J.P.; Gagliardo, R.; Haddad, C.F.B.; Kok, P.J.R.; Means, D.B.; Noonan, B.P.; Schargel, W.E. & Wheeler, W.C. 2006: Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Amphibia: Athesphatanura: Dendrobatidae). *B. Am. Mus. Nat. Hist.* (299): 1-262.
- Greene, H.W. 1994. Systematics and natural history: foundations for understanding and conserving biodiversity. *American Zoologist* (34): 48-56.
- Gridi-Papp, M. 2003. Mechanism, behavior and evolution of calling in four North American treefrogs. PhD thesis, The University of Texas, Austin: 177 pp.
- Gridi-Papp, M.; Rand, A.S. & Ryan, M.J. 2006. Complex call production in túngara frogs. *Nature* (441): 38.
- Harvey, P.H. & Pagel, M.D. 1991. *The Comparative Method in Evolutionary Biology*. Oxford: Oxford University Press: 235pp.
- Hennig, W. 1966. *Phylogenetic Systematics*, University of Illinois Press, Urbana: 263pp.
- Hennig, W. 1968. *Elementos de una sistemática filogenética*. Buenos Aires: Eudeba Editorial Universitaria: 353pp.
- Heyer, W.R. 1974. Relationships of the marmoratus species group (Amphibia, Leptodactylidae) within the subfamily Leptodactylinae. *Contributions in Science*, Los Angeles County Museum, Los Angeles (191): 1-48.
- Heyer, W.R. 1975. A preliminary analysis of the intergeneric relationships of the frog family Leptodactylidae. *Smithsonian Contributions to Zoology*, Washington (199): 1-55.
- Hödl, W. & Amézquita, A. 2001. Visual Signaling in Anuran Amphibians. In: *Anuran Communication*, 1st edn Ryan, M.J. (Ed.). Smithsonian Inst. Press, Washington: 121-141.

- Huxley, J. 1966. A discussion on ritualization of behavior in animals and man: introduction. *Phil. Trans. R. Soc. Ser. B.* (251): 249-271.
- Johnsgard, P.A. 1961. The taxonomy of the Anatidae: a behavioral analysis. *Ibis* (103): 71-85.
- Kime, N.M.; Turner, W.R. & Ryan, M.J. 2000. The transmission of advertisement call in Central American frogs. *Behav. Ecol.* (11): 71-83.
- Lorenz, K.D. 1941. Vergleichende Bewegungsstudien an Anatinen. *J. Ornithol.* 89, Sonderheft: 19-29. In: 1972. *Function and Evolution of Behavior: An Historical Sample from the Pens of Ethologists.* Klopfer, P.H. & Hailman, J.P. (Eds.), Reading, Massachusetts: Addison-Wesley: 231-259.
- Maddison, W.P. & Maddison, D.R. 1992. Analysis of phylogeny and character evolution. Version 3.0. Sinauer Ass., Sunderland, Massachusetts: 492pp.
- Martin, W.F. & Gans, C. 1972. Muscular control of the vocal tract during release signaling in the toad *Bufo valliceps*. *J. Morphol.* (137): 1-28.
- Martin, W.F. 1971. Mechanics of sound production in toads of the genus *Bufo*: passive elements. *J. Exp. Zool.* (176): 273-294.
- Martin, W.F. 1972. Evolution of vocalizations in the genus *Bufo*. In: *Evolution in the genus Bufo.* Blair, W.F. (Ed.), University of Texas Press, Austin: 279-309.
- McClelland, B.E.; Wilczynski, W. & Ryan, M.J. 1996. Correlations between call characteristics and morphology in male cricket frogs (*Acris crepitans*). *J. Exp. Biol.* (199): 1907-1919.
- McLister, J.D. 2001. Physical factors affecting the cost and efficiency of sound production in the *Hyla versicolor*. *J. Exp. Biol.* (204): 69-80.
- McLister, J.D.; Stevens, E.D. & Bogart, J.P. 1995. Comparative contractile dynamics of calling and locomotor muscles in three hylid frogs. *J. Exp. Biol.* (198): 1527-1538.



- Milne, M.J. & Milne, L.J. 1939. Evolutionary trends in caddis worm case construction. *Ann. Entomol. Soc. Am.* (32): 533-542.
- Morton, E.S. 1975. Ecological sources of selection on avian sounds. *Amer. Natur.* (109): 17-34.
- Mundinger, P.C. 1979. Call learning in the Carduelinae: ethological and systematic considerations. *Syst. Zool.* (28): 270-283.
- Nascimento, L.B.; Caramaschi, U. & Cruz, C.A.G. 2005. Taxonomic review of the species groups of the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 with *Eupemphix* Steindachner, 1836 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Arquivos do Museu Nacional* 63(2): 297-320.
- Nixon, K.C. 2002. Winclada, version 1.00.08. Software available online at: <http://www.cladistics.com>
- Otte, D. 1970. A comparative study of communicative behavior in grasshoppers. *Misc. Publs Mus. Zool. Univ. Mich.* (141): 1-168.
- Penna, M. & Solis, R. 1998. Frog call intensities and sound propagation in the South American temperate forest region. *Behav. Ecol. Sociobiol.* (42): 371-381.
- Price, J.J. & Lanyon, S.M. 2002. Reconstructing the evolution of complex bird song in the oropendolas. *Evolution* 56(7): 1514-1529.
- Proctor, H.C. 1993. Sensory exploitation and the evolution of male mating behaviour: a cladistic test using water mites (Acari: Parasitengona). *Anim. Behav.* (44): 745-752.
- Prum, R. 1990. Phylogenetic analysis of the evolution of display behavior in the neotropical manakins (Aves: Pipridae). *Ethology* (84): 202-231.
- Pyron, R.A. & Wiens, J.J. 2011. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. *Molec. Phylogen. Evol.* (61): 543-583.

- Rabb, G.B. 1960. On the unique sound production of the Surinam toad, *Pipa pipa*.  
Copeia: 368–369.
- Remane, A. 1952. Die Grundlagen des natürlichen Systems, der vergleichenden Anatomie und der Phylogenetik.. Akademische Verlagsgesellschaft, Leipzig: 400pp.
- Revell, L.J.; Harmon, L.J. & Collar, D.C. 2008. Phylogenetic signal, evolutionary process and rate. Syst. Biol. (57): 591-601.
- Ridley, M. 1983. The explanation of organic diversity, the comparative method and adaptations for mating. Oxford University Press, Oxford: 272pp.
- Robillard, T.; Höbel, G. & Gerhardt, C. 2006. Evolution of advertisement signals in North American hylid frogs: vocalizations as end-products of calling behavior. Cladistics (22): 533-545.
- Ron, S.R.; Santos, J.C. & Cannatella, D.C. 2006 Phylogeny of the túngara frog genus *Engystomops* (*Physalaemus pustulosus* species group; Anura: Leptodactylidae) Mol. Phylogenet. Evol (39): 392-403.
- Ryan, M.J. & Brenowitz, E.A. 1985. The role of environmental selection in intraspecific divergence of mate recognition signals in the cricket frog, *Acris crepitans*. Evolution (44): 1869-1872.
- Ryan, M.J. & Rand, A.S. 1993. Sexual selection and signal evolution: the ghost of biases past. Philos. Trans. R. Soc. London, Series B (340): 187-195.
- Ryan, M.J. & Rand, A.S. 1993b. Species recognition and sexual selection as a unitary problem in animal communication. Evolution (47): 647-657.
- Ryan, M.J. 1986. Factors influencing the evolution of acoustic communication: biological constraints. Brain Behav. Evol. (28): 70-82.

- Ryan, M.J. 1988. Constraints and patterns in the evolution of anuran acoustic communication. In: The Evolution of the Amphibian Auditory System. Fritzsche, B.; Ryan, M. J.; Wilczynski, W.; Hetherington, T. E. & Walkowiak, W. (Eds.), New York: John Wiley: 637-677.
- Schmid, E. 1976. Contribution to the morphology and histology of the vocal cords of central european Anurans (Amphibia). Zoologische Jahrbucher Anat. Bd. S.: 133-150.
- Schneider, H. 1988. Peripheral and central mechanisms of vocalization. In: Fritzsche, B., Ryan, M.J., Wilczynski, W., Hetherington, T., Walkowiak, W. (Eds.), Peripheral and Central Mechanisms of Vocalization. John Wiley and Sons, Inc., New York: 537-558.
- Silva, R.A.; 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.
- Slabbekoorn, H. & Smith, T.B. 2002. Bird song, ecology and speciation. Phil. Trans. R. Soc. B: Biological Sciences (357): 493-503.
- Slikas, B. 1998. Recognizing and testing homology of courtship displays in storks (Aves: Ciconiiformes: Ciconiidae). Evolution, (52): 884-893.
- Spieth, H.T. 1947. Sexual behavior and isolation in *Drosophila*. I. The mating behavior of species of the *willistoni* group. Evolution (1): 17-31.
- Stuart, A.E.; Hunter, F.F. & Currie, D.C. 2002. Using behavioral characters in phylogeny reconstruction. Ethol Ecol. Evol. (14): 129-139.
- Tárano, Z. & Ryan, M.J. 2002. No pre-existing biases for heterospecific call traits in the frog *Physalaemus enesefae*. Anim. Behav. (64): 599-607.

- Tinbergen, N. 1959. Comparative studies of the behavior of gulls (Laridae): a progress report. *Behaviour*, (15): 1–70.
- Tobias, W. 1994. Measurement of ventilator responses in toad *Bufo marinus*. A comparison of pneumotachography and buccal pressures. *Comp. Bioch. Physiol. Part A: Physiology* 109(3): 793-798.
- Trewavas, E. 1933. The hyoid and larynx of the anura. *Phil. Trans. Royal Soc. London* (222): 401-527.
- Van Tets, G.F. 1965. A comparative study of some social communication patterns in the Pelecaniformes. *Ornithol. Monogr.* (2): 1-88.
- Vences, M.; Vieites, D.R.; Glaw, F.; Brinkmann, H.; Kosuch, J.; Veith, M. & Meyer, A. 2003. Multiple overseas dispersal in amphibians. *Proc. R. Soc. B.* (270): 2435-2442.
- Vielliard, J. 1983. Catálogo sonográfico dos cantos e piados dos beija-flores do Brasil, 1. *Bol. Museu de Biologia "Mello Leitão", Série Biologia* (58): 1-20.
- Waser, P.M. & Brown, C.H. 1986. Habitat acoustics and primate communication. *Amer. J. Primat.* (10): 135-154.
- Wells, K.D. & Schwartz, J.J. 1982. The effect of vegetation on the propagation of calls in the neotropical frog *Centronella fleisehmanni*. *Herpetologica* (38): 449-455.
- Wells, K.D. 2007. *The ecology and behavior of amphibians*. University of Chicago Press, Chicago, USA: 1148pp.
- Wenzel, E.M.; Wightman, F.L. & Kistler, D.J. 1991. "Localization with nonindividual virtual acoustic display cues. *Proc. CHI'91, ACM Conf. Hum. Fac. Com. Sys.*, New Orleans, LA: 351-359.
- Whitman, C. O. 1899. Animal behaviour. In: *Biological Lectures*, Woods Hole. Whitman, C.O. (Ed.), Boston, Ginn.: 285-338.

- Wilczynski, W.; Rand, S.A. & Ryan, M.J. 2001. Evolution of Calls and Auditory Tuning in the *Physalaemus pustulosus* Species Group. *Br. Behav. Evol.* (58): 137-151.
- Wiley, R.H. 1991. Associations of song properties with habitats for territorial oscine birds of eastern North America. *Am. Nat.* (138): 973-993.
- Yager, D.D. 1992. A unique sound production mechanism in the pipid anuran *Xenopus borealis*. *Zool. J. Linn. Soc.* (104): 351-375
- Zimmermann, B.L. 1983. A comparison of structural features of calls of open and forest habitat frog species in the Central Amazon. *Herpetologica* (39): 235-246.

## Tabelas

Tabela I – Dados transformados através das categorias dos parâmetros acústicos de uma espécie de *Pseudopaludicola* e das 28 espécies do gênero *Physalaemus*. FMa = frequência máxima, FMi = frequência mínima, FD = frequência dominante, NN = número de notas no canto, H = ausência ou presença de harmônicos na nota, DN = duração da nota, IN = intervalo entre as notas, DP = duração dos pulsos, NP = número de pulsos na nota e TR = taxa de repetição da nota no canto.

	FMa	FMi	FD	NN	H	DN	IN	DP	NP	TR
<i>P. mystacalis</i>	8	5	6	2	2	0	0	0	0	7
<i>P. aguirrei</i>	6	0	5	1	1	0	1	0	1	4
<i>P. feioi</i>	3	3	3	2	2	0	0	0	0	7
<i>P. lateristriga</i>	2	1	2	1	2	6	2	0	2	1
<i>P. maximus</i>	1	1	0	1	1	4	2	0	1	1
<i>P. olfersii</i>	2	2	4	1	2	6	2	0	2	0
<i>P. orophilus</i>	4	4	4	2	2	0	0	0	0	7
<i>P. soaresi</i>	5	3	4	1	2	3	3	0	3	0
<i>P. albonotatus</i>	3	0	4	1	1	2	3	0	2	1
<i>P. centralis</i>	1	0	1	1	1	0	0	0	0	6
<i>P. cicada</i>	5	3	5	2	1	0	0	0	0	7
<i>P. cuqui</i>	4	0	4	1	1	3	3	0	2	1
<i>P. cuvieri</i>	2	0	0	1	1	0	0	0	1	6
<i>P. ephippifer</i>	3	0	0	1	1	0	4	0	0	1
<i>P. erikae</i>	5	0	4	1	1	1	9	0	1	0
<i>P. fischeri</i>	4	0	0	1	1	1	0	0	1	5
<i>P. kroyeri</i>	4	1	4	1	1	0	0	0	1	5
<i>P. angrensis</i>	1	1	1	1	2	1	0	1	0	5
<i>P. atlanticus</i>	0	1	1	1	2	1	0	2	0	3
<i>P. bokermanni</i>	7	4	5	2	2	0	0	0	0	7
<i>P. camacan</i>	0	1	1	1	2	1	0	0	1	4
<i>P. crombiei</i>	0	1	1	1	1	0	0	1	0	6
<i>P. irroratus</i>	1	2	2	2	2	0	0	0	0	4
<i>P. maculiventris</i>	0	1	1	1	2	0	1	0	0	3
<i>P. moreirae</i>	0	0	1	1	2	1	0	1	0	5
<i>P. nanus</i>	3	1	2	2	1	0	2	1	0	2
<i>P. obtectus</i>	1	2	1	2	2	0	0	0	0	4
<i>P. signifer</i>	1	1	1	1	1	1	0	0	1	5
<i>P. spiniger</i>	3	1	2	1	1	0	2	0	0	1

Tabela II – Dados dos parâmetros (numerados de 0 a 9) e dos estados de caracteres do canto de anúncio (numerados de 0 a 9). FMa – frequência máxima, FMi – frequência mínima, FD – frequência dominante, NN – número de notas por canto, H – presença de harmônicos, DN – duração da nota, IN – intervalo entre notas, DP – duração dos pulsos, NP – número de pulso, TR – taxa de repetição da nota. (kHz) – kilohertz, (ms) – milissegundos.

Parâmetro/Estado	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0 = FMa (kHz)	1,5-1,99	2,0-2,49	2,5-2,99	3,0-3,49	3,5-3,99	4,0-4,49	4,5-4,99	5,0-5,49	+5,5	
1 = FMi (kHz)	0,1-0,49	0,5-0,99	1,0-1,49	1,5-1,99	2,0-2,49	+2,5				
2 = FD (kHz)	0,5-0,99	1,0-1,49	1,5-1,99	2,0-2,49	2,5-2,99	3,0-3,49	+3,5			
3 = NN	1 nota	+ 1 nota								
4 = H	com H	em H								
5 = DN (ms)	0,01-0,49	0,5-0,99	1,0-1,49	1,5-1,99	2,0-2,49	2,5-2,99	3,0-3,49			
6 = IN (ms)	0,02-0,99	1,0-1,99	2,0-2,99	3,0-3,99	4,0-4,99	5,0-5,99	6,0-6,99	7,0-7,99	8,0-8,99	9,0-9,99
7 = DP (ms)	0,001-0,009	0,01-0,09	0,1-0,99							
8 = NP	1-100	101-400	401-999	+1000						
9 = TR (notas/min)	0,1-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-100	+101		

## Figuras

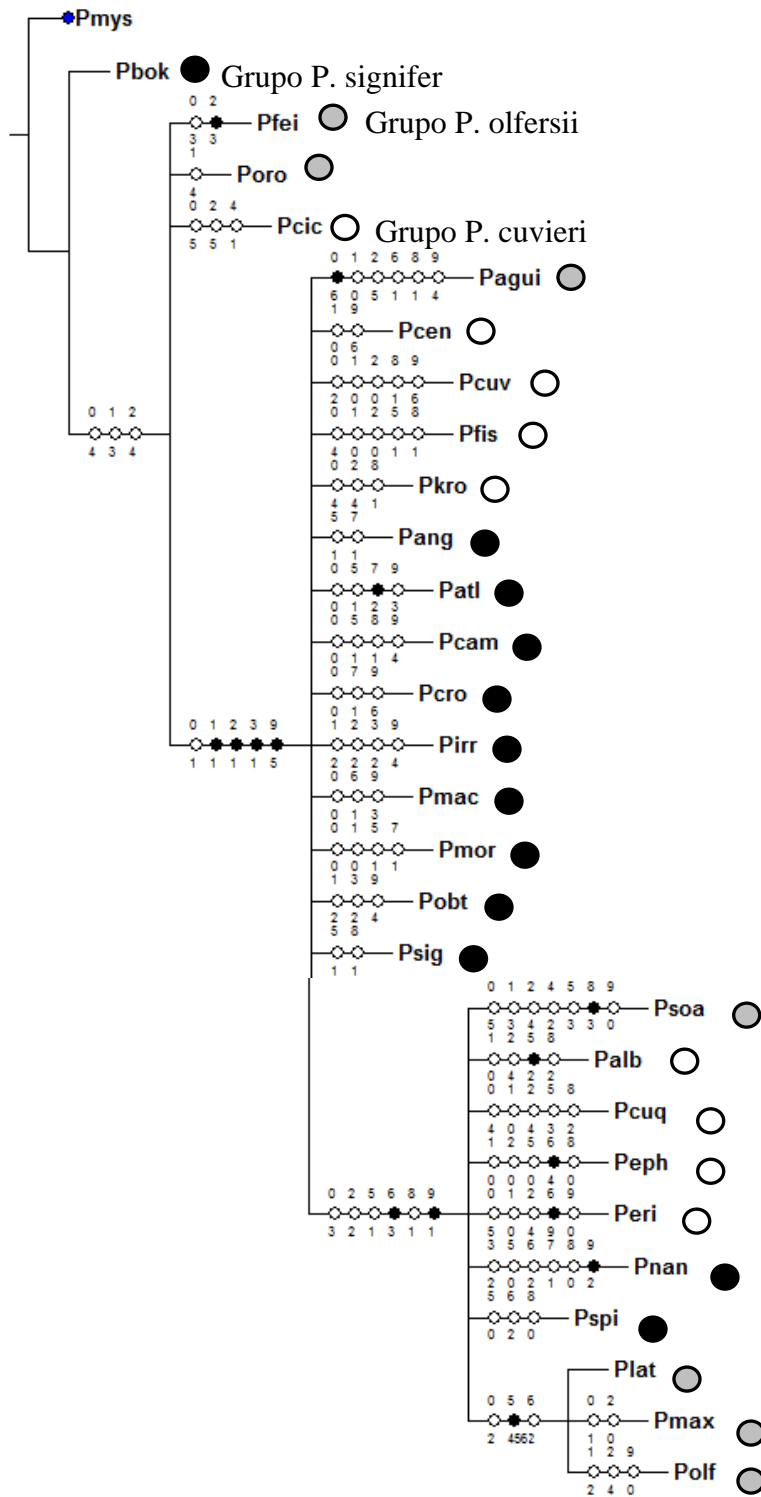


Figura 1 – Cladograma do canto de anúncio de 28 espécies do gênero *Physalaemus* de consenso estrito de 33 árvores filogenéticas encontradas (L = 180; Ri = 46). Numerais superiores indicam o parâmetro e numerais inferiores os estados dos parâmetros. *P. mys* – *Pseudopaludicola mystacalis* (grupo externo), *P. bok* – *P. bokermanni*, *P. fei* – *P. feioi*, *P. oro* – *P. orophilus*, *P. cic* – *P. cicada*, *P. agu* – *P. aguirrei*, *P. cen* – *P. centralis*, *P. cuv* – *P. cuvieri*, *P. fis* – *P. fischeri*, *P. kro* – *P. kroyeri*, *P. ang* – *P. angrensis*, *P. atl* – *P. atlanticus*, *P. cam* – *P. camacan*, *P. cro* – *P. crombiei*, *P. mac* – *P. maculiventris*, *P. mor* – *P. moreirae*, *P. irr* – *P. irroratus*, *P. obt* – *P. obtectus*, *P. sig* – *P. signifer*, *P. soa* – *P. soaresi*, *P. alb* – *P. albonotatus*, *P. cuq* – *P. cuqui*, *P. eph* – *P. ephippifer*, *P. eri* – *P. erikae*, *P. nan* – *P. nanus*, *P. spi* – *P. spiniger*, *P. lat* – *P. lateristriga*, *P. max* – *P. maximus*, *P. olf* = *P. olfersii*.



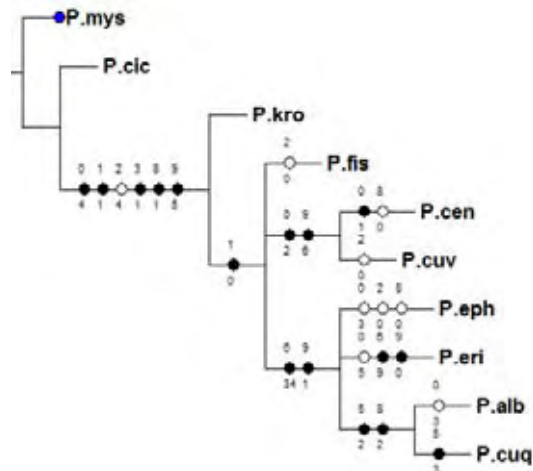


Figura 2 – Cladograma do canto de anúncio de nove espécies do grupo *P. cuvieri* de consenso estrito de três árvores filogenéticas encontradas (L = 55; Ci = 74 e Ri = 75). Numerais superiores indicam o parâmetro e numerais inferiores os estados dos parâmetros. *P. mys* – *Pseudopaludicola mystacalis* (grupo externo), *P. cic* – *P. cicada*, *P. kro* – *P. kroyeri*, *P. fis* – *P. fischeri*, *P. cen* – *P. centralis*, *P. cuv* – *P. cuvieri*, *P. eph* – *P. ephippifer*, *P. eri* – *P. erikae*, *P. alb* – *P. albonotatus* e *P. cuq* – *P. cuqui*.

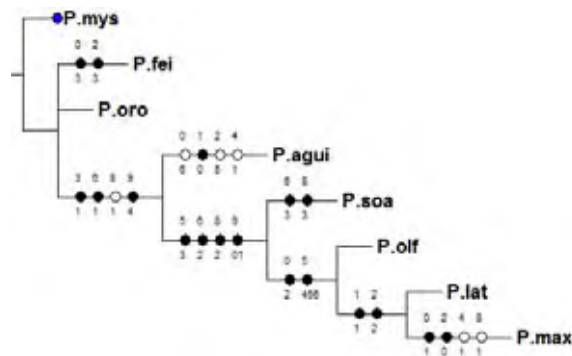


Figura 3 – Cladograma do canto de anúncio de sete espécies do grupo *P. olfersii* de consenso estrito de três árvores filogenéticas encontradas (L = 53; Ci = 73 e Ri = 76). Numerais superiores indicam o parâmetro e numerais inferiores os estados dos parâmetros. *P. mys* – *Pseudopaludicola mystacalis* (grupo externo), *P. fei* – *P. feioi*, *P. oro* – *P. orophilus*, *P. agu* – *P. aguirrei*, *P. soa* – soaresi, *P. olf* – *P. olfersii*, *P. lat* – *P. lateristriga*, *P. max* – *P. maximus*.

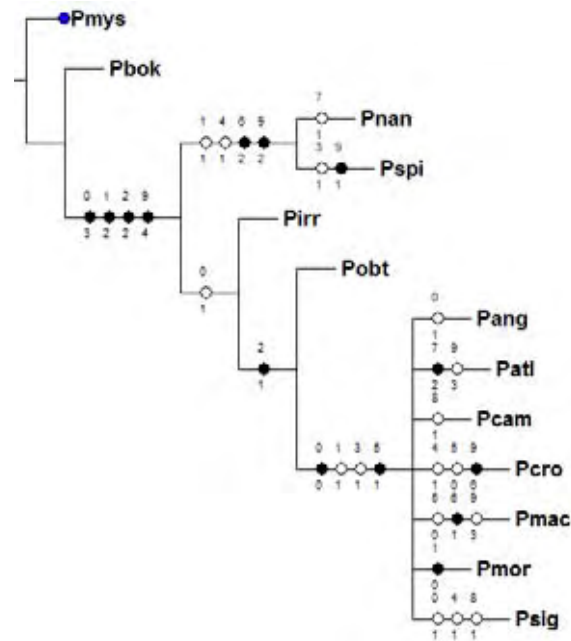


Figura 4 – Cladograma do canto de anúncio de doze espécies do grupo *P. signifer* de consenso estrito de cinco árvores filogenéticas encontradas ( $L = 53$ ;  $Ci = 60$  e  $Ri = 63$ ). Numerais superiores indicam o parâmetro e numerais inferiores os estados dos parâmetros. *P. mys* – *Pseudopaludicola mystacalis* (grupo externo), *P. bok* – *P. bokermanni*, *P. nan* – *P. nanus*, *P. spi* – *P. spiniger*, *P. irr* – *P. irroratus*, *P. obt* – *P. obtectus*, *P. ang* – *P. angrensis*, *P. atl* – *P. atlanticus*, *P. cam* – *P. camacan*, *P. cro* – *P. crombiei*, *P. mac* – *P. maculiventris*, *P. mor* – *P. moreirae*, *P. sig* – *P. signifer*.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os parâmetros bioacústicos, espectrais e temporais, influenciam na segregação dos cantos do grupo *P. cuvieri*. Parâmetros como as frequências, máxima e dominante, e a duração da nota foram os mais importantes na segregação dos cantos. Estão diretamente relacionados com o reconhecimento específico. Entretanto, parâmetros como a duração dos pulsos e a taxa de repetição promovem uma menor segregação quando comparados aos demais parâmetros, e devem refletir as condições ambientais.

Mas a distribuição geográfica da espécie não influencia nos parâmetros bioacústicos, com espécies alopátricas apresentando maior similaridade que espécies simpátricas. Assim, esta investigação do canto fornece pistas sobre quais parâmetros bioacústicos são importantes na discriminação entre congêneres.

Não houve influência do tipo de habitat nos parâmetros bioacústicos do canto de anúncio das espécies dos três grupos do gênero *Physalaemus*. Houve, sim, uma forte influência filogenética entre essas espécies congênicas, mostrando que este pode ser um importante sinal na interpretação da evolução do canto entre as espécies de anuros. Sendo assim, a descrição dos cantos é importante para estudos envolvendo taxonomia.

A influência do habitat no canto foi restrita a diferenças na faixa de frequência emitida pelas espécies, à utilização de harmônicos pelas espécies de área aberta e à maior amplitude nos valores temporais em espécies de ambiente de mata. Nossos dados apóiam a hipótese de que algumas diferenças em cantos entre habitats diferentes sejam resultado de seleção ambiental na estrutura do canto para aumentar a eficiência da transmissão.

Mas, em espécies congênicas, o canto também sofre forte influência filogenética, podendo também fornecer homologias robustas para uso em estudos

comparativos das vocalizações de anuros e para derivar e testar hipóteses evolucionistas produzindo informações filogenéticas consistentes.

Verificamos que os parâmetros bioacústicos utilizados foram satisfatórios para demonstrar o padrão de evolução em cada clado. Porém, foram insuficientes para demonstrar algum padrão evolutivo quando os clados foram agrupados.

Todos os parâmetros espectrais apresentaram-se mais conservadores tendo forte influência filogenética, bem como parâmetros temporais das espécies que ocorrem em mata; enquanto que parâmetros temporais como duração e taxa de repetição da nota, de espécies de área aberta, mostraram valores mais flexíveis influenciado por fatores ambientais ou condições de comportamento social.