

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA DE  
AMBIENTES AQUÁTICOS CONTINENTAIS

JÉSSICA FERNANDA BICALHO

**A influência de fatores ambientais, morfológicos e temporais nas vocalizações  
de *Dendropsophus minutus* (Amphibia, Anura)**

Maringá  
2018

JÉSSICA FERNANDA BICALHO

**A influência de fatores ambientais, morfológicos e temporais nas vocalizações de *Dendropsophus minutus* (Amphibia, Anura)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais.

Área de concentração: Ciências Ambientais

Orientador: Prof. Dr. Rogério Pereira Bastos

Coorientador: Dr. Ricardo Lourenço-de-Moraes

Maringá  
2018

"Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)"  
(Biblioteca Setorial - UEM. Nupélia, Maringá, PR, Brasil)

B583i Bicalho, Jéssica Fernanda, 1993-  
A influência de fatores ambientais, morfológicos e temporais nas vocalizações de *Dendropsophus minutus* (Amphibia, Anura) / Jéssica Fernanda Bicalho.-- Maringá, 2018.  
51 f. : il. (algumas color.).  
Dissertação (mestrado em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais)-- Universidade Estadual de Maringá, Dep. de Biologia, 2018.  
Orientador: Prof. Dr. Rogério Pereira Bastos.  
Coorientador: Dr. Ricardo Lourenço de Moraes.  
1. *Dendropsophus minutus* (Amphibia, Anura) "perereca de ampulheta" - Comunicação acústica - Piracanjuba (Município) - Goiás (Estado). 2. *Dendropsophus minutus* (Amphibia, Anura) "perereca de ampulheta" - Comportamento acústico - Piracanjuba (Município) - Goiás (Estado). 3. Bioacústica. 4. Ecologia de Cerrado. I. Universidade Estadual de Maringá. Departamento de Biologia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais.

CDD 23. ed. -597.8781594098173  
NBR/CIP - 12899 AACR/2

Maria Salete Ribelatto Arita CRB 9/858  
João Fábio Hildebrandt CRB 9/1140

JÉSSICA FERNANDA BICALHO

**A influência de fatores ambientais, morfológicos e temporais nas vocalizações de *Dendropsophus minutus* (Amphibia, Anura)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia de Ambientes Aquáticos Continentais do Departamento de Biologia, Centro de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Ambientais pela Comissão Julgadora composta pelos membros:

COMISSÃO JULGADORA

Prof. Dr. Rogério Pereira Bastos  
Universidade Federal de Goiás (Presidente)

Prof. Dr. Rodrigo Lingnau  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná/ Campus Francisco Beltrão (UTFPR)

Prof. Dr. Diego José Santana Silva  
Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Aprovada em: 23 de março de 2018.

Local de defesa: Anfiteatro Prof. “Keshiyu Nakatani”, Nupélia, Bloco G-90, *campus* da Universidade Estadual de Maringá.

À minha vózinha Geralda,  
meu maior exemplo de fé e amor!

## AGRADECIMENTOS

Sou grata primeiramente à Deus, que me deu a vida, e todos os dias a chance de um novo recomeço. Ele é minha base e me deu força e sabedoria para concluir esta etapa.

Ao meu orientador, Rogério Pereira Bastos, que sem ao menos me conhecer, me aceitou como aluna e me deu a chance de chegar até aqui. Me ensinou as primeiras lições sobre os anfíbios e o campo. Sou imensamente grata pela oportunidade, pelas correções e ensinamentos.

Ao meu coorientador, Ricardo Lourenço-de-Moraes, pelas conversas reflexivas à respeito da ecologia e dos anuros, pelos campos, pelas injeções de entusiasmo na pesquisa e pela disponibilidade.

Ao Diego Llusia, por todo o auxílio nas análises com modelos lineares, correções, esclarecimentos, pontos de vista e pela força.

A banca, Diego Santana e Rodrigo Lingnau, que aceitaram prontamente o convite e se dispuseram a ler e avaliar o trabalho. Muito obrigada pelas contribuições valiosas.

Aos meus pais, Orlando e Maria Amélia, que me deram todo o suporte para que eu chegasse até aqui, e são os exemplos de pessoas guerreiras e honestas na minha vida.

A minha irmã Ana Beatriz, que me ensina todos os dias o que é dividir os pais e as coisas, e está sempre disposta a ajudar.

Aos meus avós, João, Geralda e Doraci, e aos meus tios, Ana, Toneto, Pedro e José, que me ensinam a superar os obstáculos de todos os dias, seguir o coração e ir atrás dos sonhos.

Aos meus primos, Conrado, Poliana e Thalys, pela torcida, carinho e amizade.

Ao meu amor, Vinícius, por ouvir minhas ideias, estar disposto a aprender sobre ecologia, anfíbios, tabela qualis e vocalizações. Obrigada pelo amor e companheirismo sempre. Você torna os dias mais leves.

Aos meus amigos, Camila, Fran, Thais, Eduardo, Carol, Pri, Renata, Larissa, Vane, Amábile e Helen, que torcem por mim e compartilharam dessa experiência comigo.

A Fifa, companheira de todas as horas, fofura e amor da minha vida.

Ao PEA, pela infraestrutura e oportunidade; e aos professores do programa, que não mediram esforços para transmitir o conhecimento, e pela disponibilidade em contribuir.

A CAPES, pelo suporte financeiro.

Ao INMET, pelos dados meteorológicos cedidos.

Por vezes, sentimos que aquilo que fazemos  
não é, senão uma gota de água no mar. Mas  
o mar seria menor se lhe faltasse uma gota.  
(Madre Teresa de Calcutá)

## **A influência de fatores ambientais, morfológicos e temporais nas vocalizações de *Dendropsophus minutus* (Amphibia, Anura)**

### **RESUMO**

Os anfíbios anuros utilizam os sinais vocais como uma das mais importantes formas de comunicação, emitidos em diversos contextos sociais. As espécies de anuros apresentam vocalizações específicas, entretanto, os parâmetros acústicos podem variar por inúmeros fatores. Assim, o objetivo do estudo foi investigar a influência dos fatores ambientais, morfológicos e temporais nas vocalizações de *Dendropsophus minutus*, por meio de duas abordagens. Analisou-se a variabilidade acústica de *D. minutus*, ao longo de estações reprodutivas, e posteriormente, o efeito da temperatura nos parâmetros acústicos e corporais de *D. minutus*. As análises foram baseadas em nove estações reprodutivas, em uma poça temporária no município de Piracanjuba, estado de Goiás, Brasil. Considerou-se em média, cinco cantos de anúncio por indivíduo, sendo quantificadas propriedades espectrais (frequência dominante e fundamental) e temporais (duração do canto, duração do pulso, número de pulsos e taxa de repetição dos cantos). Dados de temperatura do ar no momento da gravação, comprimento rostro-cloacal e massa dos indivíduos também foram aferidos.

**Palavras-chave:** Bioacústica. Comportamento acústico. Cerrado. Variação temporal.

## **The influence of environmental, morphological and temporal factors on the vocalizations of *Dendropsophus minutus* (Amphibia, Anura)**

### ***ABSTRACT***

Anuran amphibians use vocal signals as one of the most important forms of communication, emitted in various social contexts. Anuran species present specific vocalizations, however, acoustic parameters can vary by several factors. Thus, the aim of this study was to investigate the influence of environmental, morphological and temporal factors on vocalizations of *Dendropsophus minutus*, through two approaches. We analyzed the acoustic variability of *D. minutus* along reproductive seasons, and afterwards, the effect of temperature on acoustic and body parameters of *D. minutus*. The analyzes were based on nine breeding seasons, carried out in individuals in a temporary pond in the municipality of Piracanjuba, state of Goiás, Brazil. We considered a mean of five advertisement calls per individual, being spectral (dominant and fundamental frequency) and temporal properties (call duration, pulse duration, number of pulses and call repetition rate) quantified. Air temperature data at the time of recording, snout-vent length and mass of individuals were also measured.

**Keywords:** Bioacoustic. Acoustic behavior. Cerrado. Temporal variation.

Dissertação elaborada e formatada conforme as normas das publicações científicas “Bioacoustics” e “Ethology Ecology & Evolution” Disponíveis em:  
<<https://www.tandfonline.com/action/authorSubmission?journalCode=tbio20&page=instructions#prep>>  
<<https://www.tandfonline.com/action/authorSubmission?journalCode=teee20&page=instructions>>

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO GERAL</b> .....	11
1.1	ESPÉCIE ESTUDADA.....	12
1.2	LOCAL DE ESTUDO.....	13
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	14
<b>2</b>	<b>VARIAÇÃO ACÚSTICA DE <i>Dendropsophus minutus</i> AO LONGO DE ESTAÇÕES REPRODUTIVAS</b> .....	16
	<b>RESUMO</b> .....	16
	<b>ABSTRACT</b> .....	17
2.1	INTRODUÇÃO.....	18
2.2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
2.2.1	Coleta e análise de dados.....	19
2.2.2	Análise estatística .....	20
2.3	RESULTADOS .....	22
2.4	DISCUSSÃO.....	27
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	30
<b>3</b>	<b>EFEITO DA TEMPERATURA NAS PROPRIEDADES ACÚSTICAS E CORPORAIS DE <i>Dendropsophus minutus</i></b> .....	34
	<b>RESUMO</b> .....	34
	<b>ABSTRACT</b> .....	35
3.1	INTRODUÇÃO.....	36
3.2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
3.2.1	Coleta de dados.....	37
3.2.2	Análise das vocalizações .....	38
3.2.3	Análise estatística .....	38
3.3	RESULTADOS .....	39
3.4	DISCUSSÃO.....	45
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	47
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	51

## 1 INTRODUÇÃO GERAL

A comunicação é fundamental no comportamento animal, em um contexto universal (Schaefer 2010), membros dos grupos sociais comunicam-se uns com os outros, e indivíduos de diferentes espécies geralmente fazem o mesmo (Schaefer 2010). Nesse sentido, as vocalizações integram parte importante da interação entre indivíduos (Fichtel e Manser, 2010), representando a principal forma de comunicação em diversos grupos animais, e dentre eles, os anuros (Vitt e Caldwell 2014). Os sinais acústicos dos anuros revelam para o ouvinte duas características do emissor: a localização e o tamanho do indivíduo (Toledo et al. 2014). As vocalizações variam de acordo com a espécie e um indivíduo produz uma variedade de cantos (Vitt e Caldwell 2014). Os cantos são emitidos em diversos contextos sociais: para o reconhecimento de coespecíficos (Wells 1988; Bastos e Haddad 2002), na escolha do parceiro (Bastos e Haddad 2002; Morais et al. 2012), quando em altas densidades de machos em um coro (Bastos e Haddad 2002, Bastos et al. 2011), em situações de perigo (Toledo et al. 2011), entre outros.

Os diferentes tipos de vocalização podem ser classificados, de acordo a circunstância, em treze tipos distintos, organizados em três categorias (cantos reprodutivos, agressivos e defensivos) (Toledo et al. 2014). Por esse motivo, a comunicação acústica requer não apenas a detecção do som, mas também a discriminação dos diferentes sinais pelo receptor (Wiley e Richards 1978). Os parâmetros dos cantos são influenciados em graus variáveis por diferentes fatores ambientais, e dentre eles, o mais estudado, são as variações pelas mudanças de temperatura (Wells 2007). As variáveis acústicas afetadas pela contração muscular ativa, como a taxa de emissão e a taxa de repetição de pulso, são altamente dependentes da temperatura, enquanto que as variáveis que não envolvem contração muscular ativa, como a frequência dominante, são menos afetadas pela temperatura (ex.: Zweifel 1968; Schneider 1977; Gayou 1984; Wong et al., 2004; Lingnau e Bastos 2007).

A presente dissertação foi estruturada seguindo duas abordagens. Inicialmente verificamos a variabilidade dos cantos de *Dendropsophus minutus*, ao longo de um gradiente temporal, e posteriormente analisamos a influência da temperatura nos parâmetros acústicos e características corporais da referida espécie.

## 1.1 ESPÉCIE ESTUDADA

Pertencente à família Hylidae (Frost 2017), *Dendropsophus minutus* (Peters 1872) (Figura 2 a e b), é um anuro de pequeno tamanho (comprimento rostro-cloacal ente 21–28 mm), arbóreo e noturno, distribuído amplamente na América do Sul (Silvano et al. 2010). Através de técnicas moleculares, *Dendropsophus minutus* foi considerado como um complexo de espécies (Gehara et al. 2014), e ao longo de sua distribuição geográfica apresentam variações na coloração, osteologia, canto de anúncio e morfologia larval (Donnelly e Myers 1991; Kaplan 1994; Jansen et al. 2011).

A reprodução de *D. minutus* ocorre em corpos d'água temporários, onde os ovos são colocados e os girinos exotróficos se desenvolvem (Silvano et al. 2010). A espécie possui um repertório vocal complexo, composto por três notas (A, B e C), que se combinam de diferentes formas para compor os cantos emitidos pelos machos da espécie (Cardoso e Haddad 1984). Em cantos de anúncio simples são emitidas apenas notas A (Figura 1), e os cantos de anúncio complexos são produzidos pelas notas A, B e C (Toledo et al. 2014).

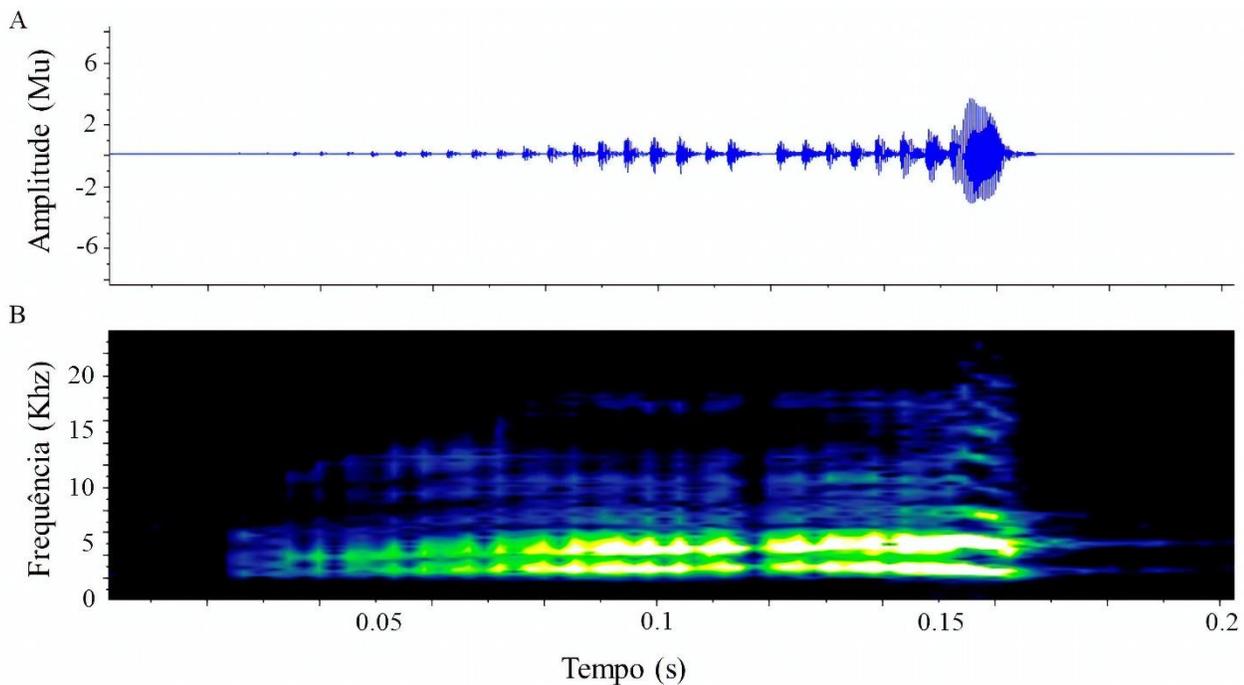


Figura 1. Oscilograma (A) e sonograma (B) de um canto simples (nota A) de *Dendropsophus minutus*.

## 1.2 LOCAL DE ESTUDO

Nós realizamos a amostragem em uma poça temporária, no Sítio Sol Nascente, na cidade de Piracanjuba, estado de Goiás, centro-oeste do Brasil (17°09'37"S; 48°51'54"O). Essa região é englobada pelo bioma Cerrado, o qual é a segunda maior formação vegetal brasileira e ocupa um quarto do território nacional (Ratter et al. 1997). O local possui duas estações bem demarcadas: chuvosa (entre outubro e março) e seca (entre abril e setembro) (Morais et al. 2012). A poça (Figura 2 b, c e d), em ambas as épocas, ocorrem espécies vegetais da família Poaceae e pequenos arbustos. Na época de seca, quando o volume de água é bem baixo, a vegetação emerge também no interior da poça.

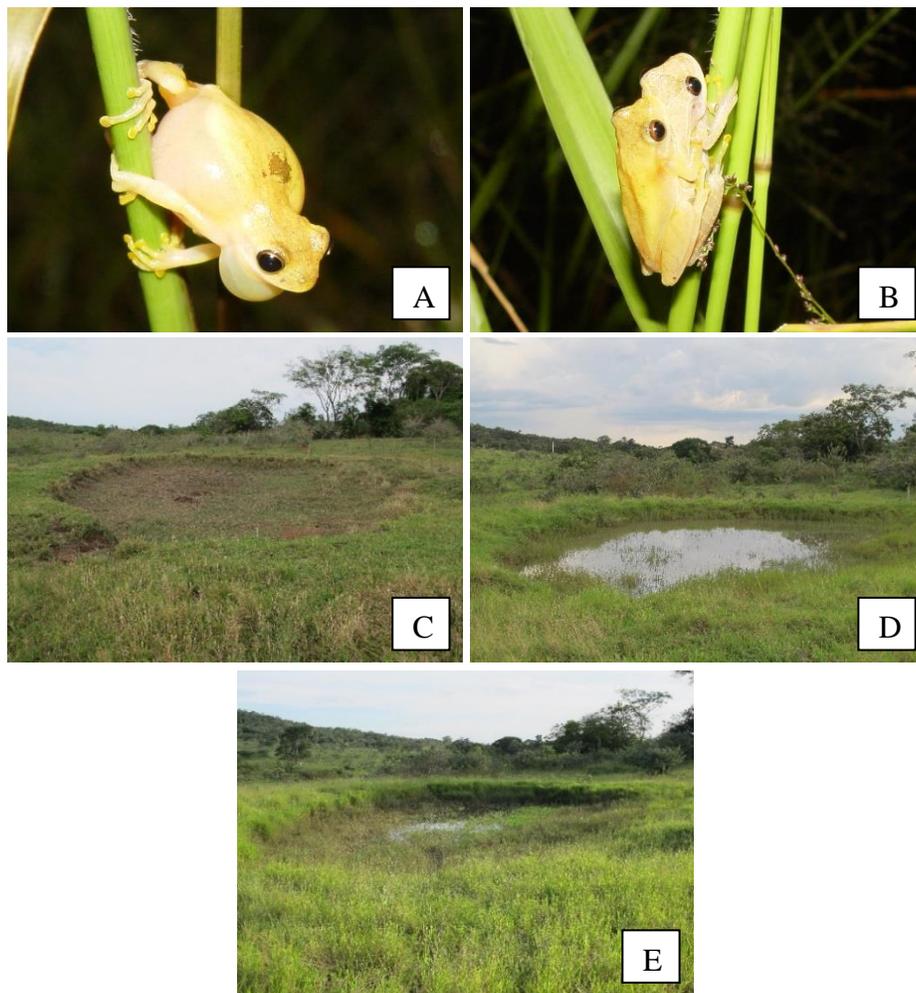


Figura 2. (A) Macho de *Dendropsophus minutus* em vocalização. Observe saco vocal. (B) Casal de *Dendropsophus minutus* em amplexo. (C) Vista da área de estudo no mês de setembro/2012 (final da estação seca). (D) Vista da área de estudo no mês de janeiro/2013 (meados da estação de chuva). (E) Vista da área de estudo no mês de maio/2014 (início da estação seca).

## REFERÊNCIAS

- Bastos RP, Alcantara MB, Morais AR, Lingnau R, Signorelli L. 2011. Vocal behaviour and conspecific call response in *Scinax centralis*. *Herpetol J.* 21(1):43-50.
- Bastos RP, Haddad CF. 2002. Acoustic and aggressive interactions in *Scinax rizibilis* (Anura: Hylidae) during the reproductive activity in southeastern Brazil. *Amphibia-Reptilia.* 23(1):97-104.
- Cardoso AJ, Haddad CFB. 1984. Variabilidade acústica em diferentes populações e interações agressivas de *Hyla minuta* (Amphibia, Anura). *Cien. Cult.* 36(8):1393-1399.
- Donnelly MA, Myers CW. 1991. Herpetological results of the 1990 Venezuelan expedition to the summit of Cerro Guaiquinima: with new tepui reptiles. *Am Mus Novit.* n. 3017.
- Eiten G. 1972. The cerrado vegetation of Brazil. *Bot Rev.* 38(2):201-341.
- Fichtel, C., Manser, M. 2010. Vocal communication in social groups. In Kappeler P, editor. *Animal behaviour: evolution and mechanisms.* Springer: Berlin; p. 29-54.
- Frost, DR. 2017. *Amphibian Species of the World: an Online Reference.* Version 6.0. New York, USA. Available at: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>.
- Gayou DC. 1984. Effects of temperature on the mating call of *Hyla versicolor*. *Copeia,* 1984(3):733-738.
- Gehara M, Crawford AJ, Orrico VG, Rodríguez A, Lötters S, Fouquet A, Barrientos LS, Brusquetti F, De la Riva I, Ernst R, et al. 2014. High levels of diversity uncovered in a widespread nominal taxon: continental phylogeography of the Neotropical tree frog *Dendropsophus minutus*. *PloS one.* 9(9):e103958.
- Jansen M, Bloch R, Schulze A, Pfenninger M. 2011. Integrative inventory of Bolivia's lowland anurans reveals hidden diversity. *Zool Scr.* 40(6):567-583.
- Kaplan M. 1994. A new species of frog of the genus *Hyla* from the cordillera oriental in northern Colombia with comments on the taxonomy of *Hyla minuta*. *J Herpetol.* 28(1):79-87.
- Lingnau R, Bastos RP. 2007. Vocalizations of the Brazilian torrent frog *Hylodes heyeri* (Anura: Hylodidae): Repertoire and influence of air temperature on advertisement call variation. *J Nat Hist.* 41(1):1227-1235.
- Morais AR, Batista VG, Gambale PG, Signorelli L, Bastos RP. 2012. Acoustic communication in a Neotropical frog (*Dendropsophus minutus*): vocal repertoire, variability and individual discrimination. *Herpetol J.* 22(4):249-257.

- Ratter JA, Ribeiro JF, Bridgewater S. 1997. The Brazilian cerrado vegetation and threats to its biodiversity. *Ann Bot-London*. 80(3):223-230.
- Schaefer HM. 2010. Visual communication: evolution, ecology, and functional mechanisms. In Kappeler P, editor. *Animal behaviour: evolution and mechanisms*. Springer: Berlin; p. 3-28.
- Schneider H. 1977. Acoustic behavior and physiology of vocalization in the European tree frog, *Hyla arborea* (L.). In Taylor DH, editor. *The reproductive biology of amphibians*. Springer: Boston; p. 295-335.
- Silvano D, Azevedo-Ramos C, La Marca E, Coloma LA, Ron S, Langone J, Baldo D, Hardy J. 2010. *Dendropsophus minutus*. The IUCN Red List of Threatened Species [Internet]. 2010: e.T55565A11332552. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-2.RLTS.T55565A11332552.en>.
- Toledo LF, Martins IA, Bruschi DP, Passos MA, Alexandre C, Haddad CF. 2014. The anuran calling repertoire in the light of social context. *Acta Ethol*. 18(2):87-99.
- Toledo LF, Sazima I, Haddad CF. 2011. Behavioural defences of anurans: an overview. *Ethol Ecol Evol*. 23(1):1-25.
- Vitt LJ, Caldwell JP. *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*, 4th ed. China: Academic Press.
- Wells KD. 1988. The effect of social interactions on anuran vocal behavior. In Frittsch B, Ryan MJ, Wilczynski W, Hetherington TE, Walkowiak W. *The evolution of the amphibian auditory system*. Wiley: New York; p.433-454.
- Wells KD. 2007. *The ecology and behavior of amphibians*. Chicago: University of Chicago Press.
- Wiley RH, Richards DG. 1978. Physical constraints on acoustic communication in the atmosphere: implications for the evolution of animal vocalizations. *Behav Ecol Sociobiol*. 3(1):69-94.
- Wong B, Cowling ANN, Cunningham RB, Donnelly, CF. 2004. Do temperature and social environment interact to affect call rate in frogs (*Crinia signifera*)? *Austral Ecol*. 29(2):209-214.
- Zweifel RG. 1968. Effects of temperature, body size, and hybridization on mating calls of toads, *Bufo a. americanus* and *Bufo woodhousii fowleri*. *Copeia*. 1968(2):269-285.

## **2 VARIAÇÃO ACÚSTICA DE *Dendropsophus minutus* AO LONGO DE ESTAÇÕES REPRODUTIVAS**

### **RESUMO**

Os sinais acústicos dos anuros são fundamentais durante o período reprodutivo, e os parâmetros acústicos podem ser classificados como estáticos ou dinâmicos, variando em um mesmo indivíduo ou entre os indivíduos da população. Com isso, o objetivo do estudo foi o de verificar a variação dos cantos de anúncio de *Dendropsophus minutus*, ao longo dos anos. Machos de uma mesma população analisada apresentaram como parâmetros estáticos as frequências dominante e fundamental. A maioria das propriedades acústicas demonstraram ser mais variáveis entre os indivíduos, servindo como ferramenta no reconhecimento individual. A temperatura e o tamanho corporal demonstraram relação com a frequência fundamental e a duração do pulso. Os cantos apresentaram variação no decorrer dos anos amostrados.

**Palavras-chave:** variabilidade acústica, gradiente temporal, hilídeo, vocalização, Cerrado

## **Acoustic variation of *Dendropsophus minutus* along reproductive seasons**

### ***ABSTRACT***

Anuran acoustic signals are fundamental during the reproductive period, and acoustic parameters can be classified as static or dynamic, varying within individual or among individuals of the population. Thereat, the aim of the study was to evaluate the variation of the advertisement calls of *Dendropsophus minutus*, over the years. Males of the same population analyzed exhibited the dominant and fundamental frequencies as static parameters. Most acoustic properties have been shown to be more variable among individuals, serving as a tool in individual recognition. Body temperature and size were related to the fundamental frequency and pulse duration. The calls presented variation during years sampled.

**Keywords:** acoustic variability, temporal gradient, hylid, vocalization, Cerrado

## 2.1 INTRODUÇÃO

Os sinais acústicos dos anuros desempenham um papel essencial durante o período reprodutivo (Wells 2007). A vocalização mais comum e mais estudada, emitida por machos de anfíbios anuros, é o canto de anúncio, e suas funções principais são a manutenção do território e a atração de fêmeas (Wells 1977; Murphy e Gerhardt 2002; Martins e Jim 2003). Estas vocalizações são, em geral, espécie-específicas, o que garante o reconhecimento dos machos pelas fêmeas coespecíficas, e consequentemente, o sucesso reprodutivo da espécie (Wells 2007). No entanto, as propriedades acústicas podem ser classificadas como estáticas ou dinâmicas, em/dentre machos da mesma espécie, de acordo com o continuum do coeficiente de variação observado (Gerhardt 1991). Cada componente pode variar entre indivíduos, e essa variação constitui a base para a seleção e evolução das características dos cantos (Vitt e Caldwell 2014). A seleção estabilizadora atua em propriedades mais estereotipadas (estáticas), enquanto a seleção direcional deve ser imposta em traços mais dinâmicos do canto, que apresentam maiores coeficientes de variação (Gerhardt 1991).

Os cantos de anúncio podem apresentar variações, devido à concorrência entre os machos, que para chamar a atenção das fêmeas geralmente modificam seus cantos, de forma a aumentar a relação sinal-ruído ou tornarem-se mais atraentes (Wells e Schwartz 2007). As variações nos elementos vocais podem, então, responder a mudanças na densidade do coro local e a presença de indivíduos coespecíficos e heteroespecíficos próximos, e agir para aproximar fêmeas (Wells 1988). A significância biológica de cantos de anuros e sua relativa simplicidade tem feito, desses elementos comportamentais, um traço clássico para estudos de seleção sexual e especiação (Ryan 1986; Gerhardt e Huber 2002).

*Dendropsophus minutus* é um dos anfíbios mais comuns da América do Sul, distribuído em grande parte do Brasil (Silvano et al. 2010) e considerado um complexo de espécies, limitado pela

distribuição (Gehara et al. 2014). Assim, o objetivo deste estudo é analisar a variação acústica do repertório de *Dendropsophus minutus*, ao longo de um gradiente temporal, com finalidade de verificar se: i. os parâmetros vocais da espécie relacionam-se com o tamanho do corpo e a temperatura; ii. as propriedades acústicas analisadas variam mais em nível individual ou interindividual; iii. e as características dos cantos variam em decorrência das estações reprodutivas.

## 2.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.2.1 Coleta e análise dos dados

Foram analisadas vocalizações de 121 indivíduos amostrados em uma poça temporária em área de pastagem, localizada no sítio Sol Nascente, município de Piracanjuba, estado de Goiás, centro-oeste do Brasil (17°09'37"S; 48°51'54"O). O registro das vocalizações foi realizado ao longo de nove estações reprodutivas: 2006-2007 (8 ind.), 2008-2009 (11 ind.), 2009-2010 (24 ind.), 2010-2011 (19 ind.), 2011-2012 (9 ind.), 2013-2014 (12 ind.), 2014-2015 (13 ind.), 2015-2016 (12 ind.), 2016-2017 (13 ind.).

As vocalizações foram registradas usando um gravador Marantz PMD 660® (taxa de amostragem de 48 kHz e profundidade de 24 ou 16 bit) acoplado a um microfone Sennheiser ME 66®, posicionado a cerca de 50 cm do indivíduo. As gravações de *Dendropsophus minutus* constituem um conjunto de dados, disponibilizado pela Fonoteca da Coleção Zoológica da Universidade Federal de Goiás (FONOZUFG).

Nós medimos o comprimento rostro-cloacal (CRC) dos indivíduos gravados, com o auxílio de um paquímetro (precisão de 0.05 mm), pesamos com uma balança digital (precisão de 0.01 g) e marcamos com fitas de fluorescência, evitando-se assim, a possibilidade de regravação e recaptura

do mesmo indivíduo. Além disso, nós mensuramos a temperatura e umidade relativa do ar com o auxílio de um termo-higrômetro digital, com sensor interno e externo (precisão de  $\pm 0,1$  °C).

As vocalizações (somente nota A) foram analisadas utilizando o software Raven Pro 1.4, versão 32 bit (Bioacoustics Research Program 2011). Apenas os cantos simples foram mensurados, uma vez que são os mais comuns. Foram analisados, em média, cinco cantos por indivíduo, considerando-se os seguintes parâmetros acústicos: duração do canto (s), número de pulsos, duração dos pulsos (s), frequência dominante (Hz), frequência fundamental (Hz) e taxa de repetição (cantos/min). A terminologia acústica segue Köhler et al. (2017). Os parâmetros temporais foram sempre analisados no oscilograma e os espectrais no espectrograma (FFT 256, sobreposição 50%, tipo de janela Hann).

### 2.2.2 Análise estatística

Para verificar a influência da temperatura do ar e do tamanho do indivíduo (produto do CRC pela massa) nos parâmetros acústicos analisados, foi empregada uma regressão múltipla, tendo as covariáveis como variáveis independentes.

Para avaliar a variabilidade dos parâmetros acústicos dos cantos, em nível intra e interindividual, utilizou-se o coeficiente de variação para cada parâmetro, proposto por Gerhardt (1991), onde  $CV = (DP/\bar{x}) \times 100$ . O coeficiente de variação intraindividual ( $CV_{intra}$ ) levou em conta a média e o desvio padrão dos cantos de cada indivíduo. No coeficiente de variação interindividual ( $CV_{inter}$ ), considerou-se a média e o desvio padrão dos indivíduos de cada estação reprodutiva. As propriedades dos cantos foram consideradas estáticas, quando o coeficiente de variação foi menor ou igual a 5%, e dinâmicas quando o coeficiente de variação foi maior ou igual a 12% (Gerhardt 1991).

Para testar a variabilidade entre machos, calculou-se a relação dos coeficientes de variação inter e intraindividuais ( $CV_{inter}/CV_{intra}$ ). O parâmetro acústico auxilia no reconhecimento individual quando  $CV_{inter}/CV_{intra} > 1$  (Márquez e Eekhout 2006). Foram utilizadas, também, análises de variância simples (ANOVA one-way) para testar a variabilidade entre machos, quando os dados foram paramétricos, e Kruskal-Wallis, quando os dados foram não-paramétricos (Zar 1996).

Testou-se a variabilidade dos parâmetros acústicos em cantos de anúncio, ao longo das estações reprodutivas amostradas. Para isso, obteve-se os coeficientes de regressão para cada parâmetro, por meio de análise de regressão simples, sendo os parâmetros as variáveis dependentes, e a temperatura a variável independente. Os valores médios de todos parâmetros acústicos individuais analisados foram, então, ajustados com a temperatura, de acordo com a equação  $Y_{adj} = Y - (b * T_{local}) + (b * T_{média})$ , descrita por Kaefer e Lima (2012), onde  $Y_{adj}$  é o valor do parâmetro ajustado,  $b$  é o coeficiente de regressão,  $T_{local}$  é a temperatura medida no local do registro acústico e  $T_{média}$  é o valor da temperatura média para todos os registros ( $\bar{x} = 22,55 \text{ °C} \pm 2,9 \text{ °C}$ ; variação 18,4 – 30,1 °C). Em seguida, os valores ajustados foram utilizados em uma análise de regressão simples para a obtenção dos resíduos, tendo como variável independente o tamanho. Os resíduos gerados representam a padronização dos dados, e foram utilizados em uma análise de componentes principais (PCA), a fim de reduzir as variáveis correlacionadas. Os scores dos eixos, com autovalores maiores que 1, obtidos da PCA foram submetidos a uma ANOVA one-way, ou Kruskal-Wallis quando os dados não foram paramétricos, tendo como variável preditora a estação reprodutiva. Os testes estatísticos foram realizados no programa Statistica 7.0 (Inc. 2005), adotando-se a significância de  $p < 0,05$ .

## 2.3 RESULTADOS

Ao longo das 9 estações reprodutivas amostradas foram analisados, no total, 579 cantos de anúncio, de 121 indivíduos de uma mesma população de *Dendropsophus minutus*. Os parâmetros acústicos apresentaram os seguintes valores médios, desvios-padrões e variações: duração do canto  $0,137 \pm 0,017$  s ( $0,096 - 0,188$  s), número de pulsos  $26,706 \pm 3,395$  ( $15,6 - 35,8$  pulsos), duração dos pulsos  $0,004 \pm 0,000$  s ( $0,0019 - 0,0051$  s), frequência dominante  $4894,322 \pm 441,107$  Hz ( $2463,42 - 5650,32$  Hz), frequência fundamental  $2576,698 \pm 105,700$  Hz ( $2250 - 2876,84$  Hz) e taxa de repetição  $7,394 \pm 3,757$  cantos/min ( $0,5 - 23$  cantos/min). Os resultados da estatística descritiva para cada estação reprodutiva podem ser visualizados na Tabela 1.

**Tabela 1:** Valores médios dos parâmetros acústicos dos cantos de anúncio de uma população de *Dendropsophus minutus*, amostrados ao longo de um gradiente temporal em uma poça temporária no sítio Sol Nascente, Góias, Brasil.

Estação reprodutiva	Duração do canto (s)	Número de pulsos	Duração do pulso (s)	Frequência dominante (Hz)	Frequência fundamental	Taxa de repetição
<b>2006/2007</b>	0,146±0,021	28,750±3,875	0,004±0,000	5030,155±231,478	2551,685±137,323	5,813±3,712
<b>2008/2009</b>	0,127±0,008	25,159±2,152	0,004±0,000	4981,603±329,613	2627,836±73,312	6,545±4,855
<b>2009/2010</b>	0,136±0,016	27,350±3,419	0,004±0,000	4289,423±1145,509	2570,349±158,439	7,604±4,559
<b>2010/2011</b>	0,134±0,023	25,811±4,399	0,003±0,001	5050,520±261,268	2606,959±103,066	8,526±3,335
<b>2011/2012</b>	0,154±0,023	26,433±3,686	0,005±0,000	4941,628±120,262	2494,523±59,756	7,278±4,258
<b>2013/2014</b>	0,128±0,016	24,586±3,070	0,004±0,000	4841,146±713,658	2593,750±81,272	5,625±3,016
<b>2014/2015</b>	0,130±0,018	26,723±3,385	0,004±0,000	4800,000±731,651	2578,846±132,718	7,000±2,799
<b>2015/2016</b>	0,136±0,017	27,067±3,775	0,004±0,000	5075,000±249,943	2587,492±104,847	9,500±4,866
<b>2016/2017</b>	0,144±0,015	28,477±2,797	0,004±0,000	5039,423±186,584	2578,846±100,569	8,654±2,410
<b>Total</b>	0,137±0,017	26,706±3,395	0,004±0,000	4894,322±441,107	2576,698±105,700	7,394±3,757

A temperatura do ar e o tamanho do indivíduo influenciaram os parâmetros duração do pulso e frequência fundamental nos cantos de anúncio. A duração do pulso foi influenciada positivamente pelo tamanho dos indivíduos, e teve uma relação negativa com a temperatura. A frequência fundamental foi fortemente afetada, de forma positiva, pela temperatura; enquanto a relação com o tamanho foi negativa (Tabela 2).

**Tabela 2:** Resultado da regressão linear múltipla para as covariáveis tamanho e temperatura, e os parâmetros acústicos dos cantos de anúncio de *Dendropsophus minutus*, amostrados entre 2007 e 2017. Valores com significância ( $p < 0.05$ ) em negrito. DC: duração do canto, NP: número de pulsos, DP: duração dos pulsos, FD: frequência dominante, FF: frequência fundamental, TR: taxa de repetição.

Parâmetros acústicos	Coeficiente de regressão parcial		R <sup>2</sup> adj.	F	P
	Tamanho	Temperatura			
DC	-0,0001	-0,0006	-0,007	0,560	0,573
NP	-0,0071	0,0830	-0,012	0,266	0,767
DP	<b>0,00001</b>	<b>-0,00004</b>	<b>0,038</b>	<b>3,361</b>	<b>0,038</b>
FD	-34,443	6,758	0,008	1,503	0,227
FF	<b>-16,094</b>	<b>3,233</b>	<b>0,173</b>	<b>13,593</b>	<b>0,000</b>
TR	-0,0514	0,1551	-0,002	0,867	0,423

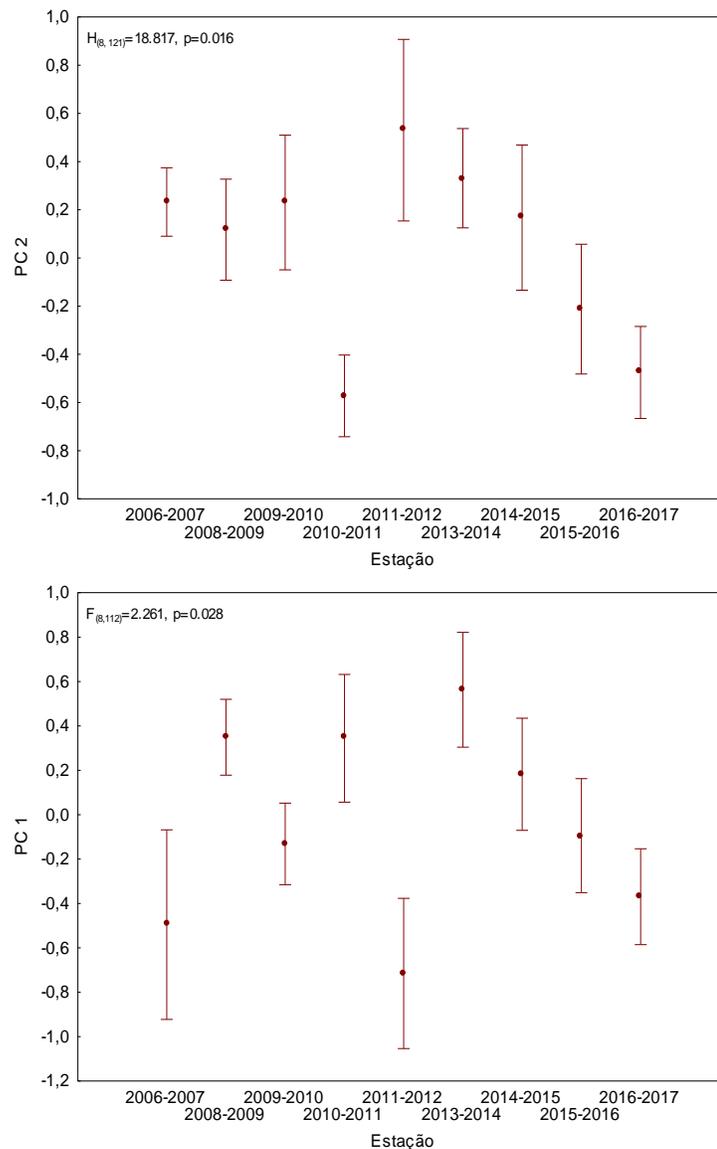
Ao longo das estações reprodutivas, os parâmetros acústicos apresentaram variabilidade no coeficiente de variação intraindividual. No entanto, nenhuma propriedade acústica foi classificada como dinâmica ( $CV_{intra}$  maior ou igual a 12%). As propriedades de frequência dominante e frequência fundamental apresentaram um  $CV_{intra}total = 2,82$  e  $1,40$ , respectivamente, ou seja, menor que 5%, o que as caracteriza como propriedades estáticas do canto. Os demais parâmetros (duração do canto, número de pulsos, duração dos pulsos) foram classificados como propriedades intermediárias, pois seus coeficientes de variação intraindividuais apresentaram valores entre 5% e 12% (tabela 3). Os coeficientes de variação intraindividuais para cada estação podem ser observados na Tabela 3.

A maioria dos parâmetros acústicos foram mais variáveis entre os machos do que em nível individual ( $CV_{inter}/CV_{intra} > 1$ ) em todas as estações reprodutivas, com exceção da duração do canto e dos pulsos, e do número de pulsos na estação de 2008/2009 ( $CV_{inter}/CV_{intra} = 0,89, 0,95$  e  $0,68$ , respectivamente). Assim, as propriedades dos cantos analisadas podem auxiliar no reconhecimento individual dos machos, especialmente as frequências dominantes ( $CV_{inter}/CV_{intra\ total} = 3,31$ ) e fundamental ( $CV_{inter}/CV_{intra\ total} = 2,92$ ) (Tabela 3).

**Tabela 3:** Coeficientes de variação intra e interindividuais (CV<sub>intra</sub> – CV<sub>inter</sub>) dos parâmetros acústicos de uma população de *Dendropsophus minutus*, bem como valores de variabilidade entre machos ((CV<sub>inter</sub>/CV<sub>intra</sub>)) e suas respectivas análises estatísticas. Amostragens realizadas ao longo de um gradiente temporal, em uma poça temporária no sítio Sol Nascente, Góias, Brasil.

Est. Reprodutiva	Duração do canto	Número de pulsos	Duração dos pulsos	Frequência dominante	Frequência fundamental
<b>2006/2007</b>	3,74 – 14,07 (3,76)	3,76 – 13,48 (3,59)	6,14 – 11,87 (1,93)	1,03 – 4,60 (4,45)	1,59 – 5,38 (3,38)
	F <sub>(28,7)</sub> =39,38 p=0,00	F <sub>(28,7)</sub> =34,02 p=0,00	F <sub>(28,7)</sub> =10,60 p=0,00	H <sub>(7,36)</sub> =32,09 p=0,00	H <sub>(7,36)</sub> =31,47 p<0,01
<b>2008/2009</b>	7,29 – 6,50 (0,89)	8,98 – 8,55 (0,95)	5,36 – 5,64 (0,68)	4,10 – 6,62 (1,61)	1,86 – 2,79 (1,50)
	H <sub>(10,51)</sub> =22,2 p=0,014	H <sub>(10,51)</sub> =22,62 p=0,012	F <sub>(10,40)</sub> =4,03 p<0,01	H <sub>(10,51)</sub> =38,38 p=0,00	H <sub>(10,51)</sub> =32,99 p<0,01
<b>2009/2010</b>	6,35 – 11,38 (1,79)	6,55 – 12,50 (1,91)	6,61 – 11,04 (1,67)	6,11 – 26,71 (4,37)	1,26 – 6,16 (4,90)
	F <sub>(23,92)</sub> =11,97 p=0,00	H <sub>(23,116)</sub> =75,93 p=0,00	H <sub>(23,116)</sub> =86,74 p=0,00	H <sub>(23,116)</sub> =99,91 p=0,00	H <sub>(23,116)</sub> =108,25 p=0,00
<b>2010/2011</b>	5,38 – 17,21 (3,20)	5,14 – 17,04 (3,31)	7,55 – 23,51 (3,11)	1,94 – 5,17 (2,67)	1,29 – 3,95 (3,07)
	H <sub>(18,95)</sub> =83,82 p=0,00	H <sub>(18,95)</sub> =84,45 p=0,00	H <sub>(18,95)</sub> =83,30 p=0,00	H <sub>(18,95)</sub> =83,74 p=0,00	H <sub>(18,95)</sub> =80,78 p=0,00
<b>2011/2012</b>	5,62 – 14,98 (2,67)	6,02 – 13,94 (2,32)	7,51 – 10,16 (1,35)	0,87 – 2,43 (2,79)	1,63 – 2,40 (1,47)
	F <sub>(8,33)</sub> =28,86 p=0,00	F <sub>(8,33)</sub> =22,91 p=0,00	F <sub>(8,33)</sub> =8,21 p<0,01	F <sub>(8,33)</sub> =22,91 p=0,00	H <sub>(8,42)</sub> =26,57 p<0,01
<b>2013/2014</b>	11,21 – 12,68 (1,13)	7,84 – 12,49 (1,59)	6,57 – 9,58 (1,46)	0,73 – 14,74 (20,23)	1,21 – 3,13 (2,60)
	H <sub>(11,55)</sub> =38,47 p<0,01	H <sub>(11,55)</sub> =41,39 p=0,00	H <sub>(11,55)</sub> =27,26 p<0,01	H <sub>(11,55)</sub> =48,74 p=0,00	H <sub>(11,55)</sub> =39,03 p<0,01
<b>2014/2015</b>	6,45 – 13,85 (2,15)	7,56 – 12,67 (1,68)	5,03 – 8,24 (1,64)	4,37 – 15,24 (3,49)	1,08 – 5,15 (4,78)
	F <sub>(12,49)</sub> =21,74 p=0,00	H <sub>(12,62)</sub> =45,41 p=0,00	F <sub>(12,49)</sub> =11,20 p=0,00	H <sub>(12,62)</sub> =55,16 p=0,0000	H <sub>(12,62)</sub> =51,67 p=0,0000
<b>2015/2016</b>	8,30 – 12,79 (1,54)	8,38 – 13,95 (1,66)	6,82 – 9,83 (1,44)	3,24 – 4,92 (1,52)	1,38 – 4,05 (2,93)
	F <sub>(11,45)</sub> =7,55 p=0,00	F <sub>(11,45)</sub> =10,05 p=0,00	H <sub>(11,57)</sub> =36,53 p<0,01	H <sub>(11,57)</sub> =41,79 p=0,00	H <sub>(11,57)</sub> =45,82 p=0,00
<b>2016/2017</b>	4,87 – 10,34 (2,12)	4,97 – 9,82 (1,98)	5,17 – 10,15 (1,96)	3,00 – 3,70 (1,24)	1,34 – 3,90 (2,91)
	F <sub>(12,52)</sub> =20,09 p=0,00	F <sub>(12,52)</sub> =18,03 p=0,00	F <sub>(12,52)</sub> =17,32 p=0,00	H <sub>(12,65)</sub> =47,65 p=0,00	H <sub>(12,65)</sub> =51,61 p=0,00
<b>Total</b>	6,58 – 12,64 (1,92)	6,58 – 12,72 (1,93)	6,31 – 11,11 (1,76)	2,82 – 9,35 (3,31)	1,40 – 4,10 (2,92)
	H <sub>(120,579)</sub> =468,53 p=0,00	H <sub>(120,579)</sub> =460,96 p=0,00	H <sub>(120,579)</sub> =476,09 p=0,00	H <sub>(120,579)</sub> =500,80 p=0,00	H <sub>(120,579)</sub> =501,57 p=0,00

Os componentes principais 1 e 2 da análise apresentaram autovalores acima de 1 (PC 1= 2,17 e PC 2= 1,41) explicando, acumulativamente, 59,59% da variação total. O PC 1 explicou 36,14% e foi positivamente relacionado à frequência dominante e frequência fundamental, enquanto o PC 2 representou 23,45% da explicação da variação e teve relação positiva com a duração dos pulsos. Os demais parâmetros foram relacionados negativamente com ambos os eixos da PCA. Os cantos de anúncio variaram ao longo do gradiente temporal amostrado, uma vez que os componentes principais apresentaram diferenças significativas entre os anos (PC 1:  $F_{(8,112)}= 2.261$ ,  $p= 0.028$  e PC 2:  $H_{(8,121)}= 18.817$ ,  $p= 0.016$ ) (Figura 1).



**Figura 1:** Variabilidade temporal dos parâmetros acústicos dos cantos de anúncio ao longo das estações reprodutivas para os dois componentes principais (PC1 e PC2), e a análise estatística associada em cada componente.

## 2.4 DISCUSSÃO

Foi encontrada uma relação negativa entre temperatura e duração dos pulsos, onde os machos emitiram pulsos com menor duração, em decorrência de temperaturas mais altas. Os parâmetros temporais do canto (duração do canto e dos pulsos, por exemplo) são afetados pelas variáveis ambientais (Ziegler et al. 2011). Neste contexto, a temperatura torna-se uma variável importante para os anuros, que são animais ectotérmicos e os parâmetros acústicos dependem da contração muscular (Wells 2007). Essa relação foi também negativa em um experimento com *Hyla versicolor* (Gayou 1984), e positiva em *Boana goianus* (Signorelli et al. 2016).

Com o aumento da temperatura, houve o aumento da frequência fundamental nos cantos de *Dendropsophus minutus*. Essa associação também foi evidente em estudos com *Bombina* sp (Lörcher 1969) e *Hyla arborea* (Schneider 1977). A relação positiva entre temperatura e frequência, observada em algumas espécies, pode ser decorrente de altas pressões de ar geradas no vocal de sapos com temperaturas corporais mais elevadas (Humfeld e Grunert 2015).

Outros estudos, relacionam negativamente a condição corporal com a frequência dominante (Toledo e Haddad 2005; Hoskin et al. 2009; Bastos et al. 2011; Morais et al. 2012; Nali e Prado 2014). Em nosso estudo, apenas a frequência fundamental apresentou menores valores em indivíduos com maior tamanho. Esse padrão foi visualizado também em *Bombina* sp. (Lörcher 1969) e *Bufo viridis viridis* (Lörcher e Schneider 1973). A relação frequência fundamental com o tamanho do corpo pode ser explicada pelo fato de que esse parâmetro espectral é determinado pelo

tamanho da laringe, e este, por sua vez, depende do tamanho do corpo (Schneider 1977). Com o auxílio de estímulos sintéticos, foi verificado que anuros machos podem usar a frequência fundamental de outros machos para avaliar o tamanho corporal (Bee et al. 1999).

As frequências do canto fundamental e dominante, parâmetros espectrais, foram diagnosticadas como estáticas nos indivíduos de *D. minutus* gravados. As propriedades classificadas como estáticas são os parâmetros que melhor caracterizam cantos espécie-específicos, pois eles se mantem constantes entre os indivíduos (Márquez e Eekhout 2006), além de servir como um importante fator no reconhecimento individual (Gerhardt 1991; Well 2007) e é um diagnóstico na diferenciação de espécies (Juncá et al. 2012; Guerra et al. 2017). Dessa forma, os parâmetros espectrais podem representar características de interesse para distinção de um complexo de espécies, limitado pela distribuição. A frequência dominante do canto também recebeu essa classificação em *Hyla versicolor* (Gerhardt 1991), em outro estudo com *D. minutus* ao longo de três estações reprodutivas, realizado por Morais et al. (2012), em *Dendropsophus ebraccatus* (Reichert 2013), e em *Scinax constrictus* (Gambale et al. 2014).

A variabilidade dos atributos acústicos, de maneira geral, demonstrou ser maior entre os machos do que em nível intraindividual, ao longo do gradiente temporal estudado; fato que caracteriza parâmetros que são, provavelmente, usados na seleção sexual (Márquez e Eekhout 2006). Esse resultado é similar àqueles obtidos com a mesma espécie (Morais et al. 2012), e com outras espécies de anuros (Howard e Young 1998; Bee e Gerhardt 2001, por exemplo). Signorelli et al. (2016) afirmam que, tanto as variáveis com propriedades espectrais, quanto temporais, são importantes para a diferenciação dos cantos entre os machos. No entanto, como observado também em nosso estudo, a frequência dominante é a principal propriedade, devido à alta relação CVinter/CVintra (Morais et al. 2012; Signorelli et al. 2016).

A variância das propriedades acústicas ao longo do gradiente temporal estudado pode ser consequência das interações sociais, que causam mudanças nas vocalizações individuais (Bernal et al. 2007). Em outro estudo com *D. minutus*, o comportamento acústico foi influenciado pela atividade vocal de outros vizinhos machos (Morais et al. 2012). Os dados analisados demonstram que apenas a duração do pulso e a frequência fundamental se relacionaram com temperatura e tamanho corporal, e os parâmetros acústicos variaram mais entre os indivíduos, do que em nível individual.

O presente estudo é o primeiro a considerar um gradiente temporal longo para análise das variações acústicas de *D. minutus*, e mostrou que a duração do pulso e a frequência fundamental foram influenciados pela temperatura e tamanho corporal dos anuros, os parâmetros espectrais foram classificados como estáticos, e os cantos de anúncio apresentaram variação ao longo das estações reprodutivas estudadas. Esses resultados são esclarecedores para se entender melhor a biologia e a dinâmica acústica da espécie, sob um aspecto mais aprofundado de tempo, uma vez que poucos estudos fazem relação a longos períodos de amostragem.

## REFERÊNCIAS

- Bastos RP, Alcantara MB, Morais AR, Lingnau R, Signorelli L. 2011. Vocal behaviour and conspecific call response in *Scinax centralis*. *Herpetol J.* 21(1):43-50.
- Bee MA, Gerhardt HC. 2001. Neighbour–stranger discrimination by territorial male bullfrogs (*Rana catesbeiana*): I. Acoustic basis. *Anim Behav.* 62(6):1129-1140.
- Bee MA, Perrill SA, Owen PC. 1999. Size assessment in simulated territorial encounters between male green frogs (*Rana clamitans*). *Behav Ecol Sociobiol.* 45(3-4):177-184.
- Bernal XE, Stanley Rand A, Ryan MJ. 2007. Sexual differences in the behavioral response of túngara frogs, *Physalaemus pustulosus*, to cues associated with increased predation risk. *Ethology.* 113(8):755-763.
- Gambale PG, Signorelli L, Bastos RP. 2014. Individual variation in the advertisement calls of a Neotropical treefrog (*Scinax constrictus*). *Amphibia-Reptilia.* 35(3):271-281.
- Gayou DC. 1984. Effects of temperature on the mating call of *Hyla versicolor*. *Copeia,* 1984(3):733-738.
- Gehara M, Crawford AJ, Orrico VG, Rodríguez A, Lötters S, Fouquet A, Barrientos LS, Brusquetti F, De la Riva I, Ernst R, et al. 2014. High levels of diversity uncovered in a widespread nominal taxon: continental phylogeography of the Neotropical tree frog *Dendropsophus minutus*. *PloS one.* 9(9):e103958.
- Gerhardt HC. 1991. Female mate choice in treefrogs: static and dynamic acoustic criteria. *Anim Behav.* 42(4):615-635.
- Gerhardt HC, Huber F. 2002. Acoustic communication in insects and anurans: common problems and diverse solutions. Chicago: University of Chicago Press.

- Guerra V, Lingnau R, Bastos RP. 2017. Vocalizations and Bioacoustic Analysis of *Boana jaguariaivensis* (Caramaschi, Cruz, and Segalla, 2010) (Anura: Hylidae). *S Am J Herpetol.* 12(1):34-41.
- Hoskin CJ, James S, Grigg GC. 2009. Ecology and taxonomy-driven deviations in the frog call–body size relationship across the diverse Australian frog fauna. *J Zool.* 278(1):36-41.
- Howard RD, Young JR. 1998. Individual variation in male vocal traits and female mating preferences in *Bufo americanus*. *Anim Behav.* 55(5):1165-1179.
- Humfeld SC, Grunert B. 2015. Effects of temperature on spectral preferences of female gray treefrogs (*Hyla versicolor*). *Herpetol Conserv Bio.* 10(3):1013-1020.
- Inc., S., 2005. Statistica (data analysis software system) version 7.1.
- Juncá FA, Röhr DL, Lourenço-de-Moraes R, Santos FJM, Protázio AS, Mercês EA, Solé M. 2012. Advertisement call of species of the genus *Frostius* Cannatella 1986 (Anura: Bufonidae). *Act. Herpetol.* 7(2):189-201.
- Lörcher K. 1969. Vergleichende bio-akustische Untersuchungen an der Rot-und Gelbbauchunke, *Bombina bombina* (L.) und *Bombina v. variegata* (L.). *Oecologia.* 3(1):84-124.
- Lörcher K, Schneider H. 1973. Vergleichende bio-akustische Untersuchungen an der Kreuzkröte, *Bufo calamita* (Laur.), und der Wechselkröte, *Bufo v. viridis* (Laur.). *Ethology.* 32(5):506-521.
- Kaefer IL, Lima AP. 2012. Sexual signals of the Amazonian frog *Allobates paleovarzensis*: geographic variation and stereotypy of acoustic traits. *Behaviour.* 149(1):15-33.
- Köhler J, Jansen M, Rodríguez A, Kok PJR, Toledo LF, Emmrich M, Glaw F, Haddad CFB, Rödel M-O, Vences M. 2017. The use of bioacoustics in anuran taxonomy: theory, terminology, methods and recommendations for best practice. *Zootaxa.* 4251(1):1-124.

- Márquez R, Eekhout XR. 2006. Advertisement calls of six species of anurans from Bali, Republic of Indonesia. *J Nat Hist.* 40(9-10):571-588.
- Martins IA, Jim J. 2003. Bioacoustic analysis of advertisement call in *Hyla nana* and *Hyla sanborni* (Anura, Hylidae) in Botucatu, São Paulo, Brazil. *Braz J Biol.* 63(3):507-516.
- Morais AR, Batista VG, Gambale PG, Signorelli L, Bastos RP. 2012. Acoustic communication in a Neotropical frog (*Dendropsophus minutus*): vocal repertoire, variability and individual discrimination. *Herpetol J.* 22(4):249-257.
- Murphy CG, Gerhardt HC. 2002. Mate sampling by female barking treefrogs (*Hyla gratiosa*). *Behav Ecol.* 13(4):472-480.
- Nali RC, Prado CP. 2014. Complex call with different messages in *Bokermannohyla ibitiguara* (Anura, Hylidae), a gladiator frog of the Brazilian Cerrado. *J Herpetol.* 48(3):407-414.
- Reichert MS. 2013. Patterns of variability are consistent across signal types in the treefrog *Dendropsophus ebraccatus*. *Biol J Linn Soc.* 109(1):131-145.
- Ryan MJ. 1986. Factors influencing the evolution of acoustic communication: biological constraints. *Brain Behav Evolut.* 28:70-82.
- Schneider H. 1977. Acoustic behavior and physiology of vocalization in the European tree frog, *Hyla arborea* (L.). In Taylor DH, editor. *The reproductive biology of amphibians*. Springer: Boston; p. 295-335.
- Signorelli L, Morais AR, Vieira RR, Bastos RP. 2016. Vocalizations of *Hypsiboas goianus* (Lutz, 1968) (Anura: Hylidae) in Central Brazil. *Stud Neotrop Fauna E.* 51(3):188-196.
- Silvano D, Azevedo-Ramos C, La Marca E, Coloma LA, Ron S, Langone J, Baldo D, Hardy J. 2010. *Dendropsophus minutus*. The IUCN Red List of Threatened Species [Internet]. 2010:

- e.T55565A11332552. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2010-2.RLTS.T55565A11332552.en>.
- Toledo LF, Haddad CFB. 2005. Acoustic repertoire and calling behavior of *Scinax fuscomarginatus* (Anura, Hylidae). *J Herpetol.* 39(3):455-464.
- Vitt LJ, Caldwell JP. 2014. *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles*, 4th ed. China: Academic Press.
- Wells KD. 1988. The effect of social interactions on anuran vocal behavior. In Frittsch B, Ryan MJ, Wilezynski W, Hetherington TE, Walkowiak W, editors. *The evolution of amphibian auditory system*. John Wiley & Sons Inc: New York; 433-454.
- Wells KD. 2007. *The ecology and behavior of amphibians*. Chicago: University of Chicago Press.
- Wells KD, Schwartz JJ. 2007. The behavioral ecology of anuran communication. In Narins PM, Feng AS, Fay RR, Popper NA, editors. *Hearing and sound communication in amphibians*. Springer: New York; 44-86.
- Zar JH. 1996. *Biostatistical Analysis*. Englewood Cliffs: Prentice-Hall.
- Ziegler L, Arim M, Narins, PM. 2011. Linking amphibian call structure to the environment: the interplay between phenotypic flexibility and individual attributes. *Behav Ecol.* 22(3):520-526.

### **3 EFEITO DA TEMPERATURA NAS PROPRIEDADES ACÚSTICAS E CORPORAIS DE *Dendropsophus minutus***

#### **RESUMO**

A temperatura pode afetar diversos aspectos da vida de animais ectotérmicos, como as taxas de desenvolvimento, e conseqüentemente o tamanho do corpo, ou ainda atividades que envolvem músculos, como o ato de vocalizar. Nesse sentido, o estudo teve como objetivo verificar o efeito da temperatura em parâmetros acústicos e corporais de *Dendropsophus minutus*, no decorrer de nove estações reprodutivas. As análises usando modelos mistos lineares generalizados (GLMM) demonstraram um aumento na temperatura, bem como um aumento de 0,105 mm/estação no tamanho do corpo dos indivíduos ao longo dos anos estudados, entretanto, não houve relação estatisticamente significativa entre essas variáveis. Além disso, os parâmetros acústicos demonstraram não ser associados à temperatura do ar, de acordo com os cantos analisados.

**Palavras-chave:** cantos de anúncio, gradiente temporal, sinais acústicos, influência térmica, tamanho do corpo.

## **Effect of temperature on the acoustic and corporal properties of *Dendropsophus minutus***

### ***ABSTRACT***

Temperature can affect many aspects of the life of ectothermic animals, such as developmental rates, and consequently body size, or activities involving muscles, such as the act of vocalizing. In this sense, the study had as objective to verify the effect of the temperature on acoustic and corporal parameters of *Dendropsophus minutus*, during nine breeding seasons. The analyzes using generalized linear mixed models (GLMM) showed an increase in temperature, as well as an increase of 0.105 mm/season in the body size of the individuals over the years studied, however, there was no statistically significant relation between the variables. In addition, the acoustic parameters were not associated with the air temperature, according to the analyzed calls.

**KEY WORDS:** advertisement calls, temporal gradient, acoustic signals, termic influence, body size.

### 3.1 INTRODUÇÃO

Nos animais ectotérmicos, como os anfíbios anuros, a temperatura do ambiente desempenha um papel fundamental na determinação dos traços da história de vida, tais como desenvolvimento e taxas de crescimento (Wells 2007; Ohlberger 2013). Os anuros, além disso, têm diversos aspectos fisiológicos e comportamentais afetados pela temperatura (Wells 2007).

A principal forma de comunicação dos anuros são os sinais acústicos (Vitt & Caldwell 2014). No que diz respeito às suas vocalizações, os parâmetros temporais do canto (duração do canto e taxa de repetição, por exemplo) exibem maior sensibilidade térmica a curto prazo do que as propriedades espectrais (Navas & Bevier 2001), reduzindo as durações e aumentando as taxas, quase de modo instantâneo, em temperaturas mais quentes, uma vez que músculos laríngeos e do tronco estão envolvidos na produção de cantos (Wells 2007; Navas et al. 2008).

Por outro lado, a frequência dominante das vocalizações é determinada principalmente pela massa e tensão das cordas vocais, que está relacionada ao tamanho corporal (Ryan 1986; Wells 2007); animais maiores tendem a apresentar cantos com frequências menores ou mais graves (Wells 2007). Sabendo que a temperatura se associa ao crescimento e desenvolvimento de ovos e girinos de diferentes formas (Herreid & Kinney 1967; Ohlberger 2013), e que os parâmetros espectrais são influenciados pelo tamanho corporal, pode-se esperar que a temperatura esteja relacionada, a longo prazo, com a frequência dominante, por exemplo. Ademais, animais de climas mais frios tendem a ser maiores se comparados à seus coespecíficos de climas mais quentes, segundo a regra de Bergmann (Boaratti 2015), conseqüentemente, poderia se esperar indivíduos menores com temperaturas mais altas. Entretanto, Boaratti et al. (2015) fez análises com milhares de indivíduos de *D. minutus* em grande parte do Brasil, e encontrou indivíduos maiores em ambientes com temperaturas elevadas.

Mudanças climáticas globais podem afetar organismos em todos os biomas e ecossistemas (Sinervo et al. 2010). Para os anuros, as espécies tropicais parecem ser mais vulneráveis às mudanças climáticas do que as espécies de clima temperado (Huey et al. 2009; Sinervo et al. 2010). O bioma Cerrado, ocorre predominante em regiões tropicais sujeitas a uma estação seca prolongada, cobrindo cerca de 45% da área da América do Sul (Scholes & Archer 1997). Estudos modelando as possíveis alterações climáticas do Cerrado, verificaram aumento na temperatura e fluxos de calor, acompanhados por uma redução na precipitação total e no teor de umidade atmosférica (Salazar et al. 2016). Essas diferenças nos fluxos de calor e umidade foram mais

visíveis durante a estação seca (Salazar et al. 2016). Além disso, estima-se que, mais de 1 milhão de km<sup>2</sup> (52%) do Cerrado brasileiro foram convertidos em lavouras e pastagens nos últimos 500 anos (MMA 2011). Essas mudanças de cobertura e uso da terra podem também afetar o clima através da absorção ou emissão de gases de efeito estufa e modificando as propriedades físicas da superfície terrestre (Pielke et al. 2002).

Nesse contexto, o objetivo do estudo foi avaliar a variabilidade térmica do ar ao longo de nove estações reprodutivas, a fim de verificar a influência da temperatura nos parâmetros acústicos (duração do canto, frequência dominante e fundamental e taxa de repetição dos cantos), bem como nas características corporais (CRC e massa) de machos da espécie *Dendropsophus minutus*.

## 3.2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.2.1 Coleta dos dados

Os dados foram obtidos ao longo de nove estações reprodutivas de *Dendropsophus minutus*, em uma poça temporária (17°09'37"S; 48°51'54"O), no sítio Sol Nascente, município de Piracanjuba, Góias, centro-oeste do Brasil. Vocalizações de 121 indivíduos obtidas nas seguintes estações: 2006-2007 (8 ind.), 2008-2009 (11 ind.), 2009-2010 (24 ind.), 2010-2011 (19 ind.), 2011-2012 (9 ind.), 2013-2014 (12 ind.), 2014-2015 (13 ind.), 2015-2016 (12 ind.), 2016-2017 (13 ind.) foram analisadas. O corpo d'água é temporário (secando nos meses de seca), tem cerca de 40 m<sup>2</sup> e apresenta vegetação emergente em seu interior, vegetação arbórea esparsa em suas margens, e, predominantemente, vegetação herbácea de até 1,5 m de altura em seu entorno.

As vocalizações foram obtidas com gravador Marantz PMD 660<sup>®</sup> (taxa de amostragem de 48 kHz e profundidade de 24bits), juntamente com um microfone Sennheiser ME66<sup>®</sup> posicionado a cerca de 50 cm do indivíduo. Depois da gravação, os indivíduos amostrados foram capturados, medidos em seu comprimento rostro-cloacal (CRC) com o auxílio de um paquímetro (precisão de 0,05 mm), pesados com uma balança digital (precisão de 0,01 g) e marcados com etiquetas fluorescentes numeradas, a fim de evitar a regravação de um mesmo animal. Além disso, foram coletados dados de temperatura do ar e a umidade relativa, através de um termo-higrômetro digital (precisão de  $\pm 1^{\circ}\text{C}$  e  $\pm 3\%$  HR) no momento da gravação.

### 3.2.2 Análise das vocalizações

Cinco cantos simples (apenas nota A) por indivíduos foram analisados, em média, por meio do programa Raven Pro 1.4 versão 32 bits (Bioacoustics Research Program 2011), totalizando 579 cantos de anúncio. Os parâmetros analisados em cada canto foram: duração do canto (seg), frequência dominante (Hz), frequência fundamental (Hz) e taxa de repetição do canto (cantos/min). Os parâmetros temporais foram sempre analisados no oscilograma e os espectrais no espectrograma (FFT 256, sobreposição 50%, tipo de janela Hann).

Também foram obtidos dados de temperatura média mensal para os respectivos anos de amostragem, de modo a comparar nossos dados aferidos em campo com os dados registrados na região, ao longo de todos os anos. Os valores de temperatura média mensal da estação meteorológica de Goiânia - GO, local mais próximo de Piracanjuba (74,17 km em linha reta) com amostragem em todos os anos, foram fornecidos pelo Instituto Nacional de Meteorologia (INMET).

### 3.2.3 Análise estatística

Foram utilizados modelos mistos lineares generalizados (GLMMs), com estrutura de erro gaussiana e função link identidade, foram usados para testar a relação entre as variáveis respostas e possíveis fatores preditivos. Primeiramente, testou-se se houve diferenças significativas na temperatura do ar (registrada no local durante as gravações) ao longo das estações reprodutivas amostradas. Para isso, utilizou-se um GLMM, onde a temperatura do ar foi considerada como variável resposta, as estações reprodutivas como fator fixo e a noite do ano referente à coleta como fator aleatório, uma vez que não foi testado o efeito da temperatura entre as noites. Ademais, duas covariáveis foram adicionadas ao modelo: o CRC dos indivíduos, para controlar o fato que indivíduos de diferentes tamanhos corporais podem vocalizar a diferentes temperaturas, e o número de indivíduos gravados por ano, para controlar a variação no esforço amostral, ao longo do estudo.

Além disso, aplicou-se dois GLMMs adicionais a fim de avaliar se houve diferenças significativas entre as massas dos anuros no decorrer dos anos, bem como entre os CRCs. Assim, a massa e o CRC foram considerados como variáveis respostas para cada um dos modelos, a estação reprodutiva como fator fixo e a noite no ano referente à coleta foi considerada como fator randômico. Em ambas as análises, duas covariáveis foram incluídas: a temperatura medida durante os registros, com o objetivo de controlar o possível efeito da temperatura local na presença de

indivíduos de diferente tamanho ou massa corporal, e o número de indivíduos gravados por ano, para controlar pela variação no esforço amostral ao longo do estudo.

A fim de verificar a relação das propriedades acústicas com a temperatura e o CRC ao longo das estações reprodutivas, foram configurados também outros quatro GLMMs para os parâmetros duração do canto, frequência dominante, frequência fundamental e taxa de repetição do canto. Para isso, utilizou-se os parâmetros acústicos como variáveis resposta, a estação como fator fixo, e o número da noite no ano da coleta como fator aleatório. Nesta ocasião as covariáveis foram: a temperatura local durante os registros, para controlar o efeito instantâneo da temperatura nos parâmetros temporais, o CRC, para controlar o efeito do tamanho corporal nos parâmetros espectrais, e o número de indivíduos gravados por ano, para controlar a variação no esforço amostral, ao longo do estudo.

Os GLMMs foram realizados no programa R (R Core Team 2018) usando as funções lmer e glmer do pacote lme4 (Bates et al. 2014). Todos os modelos incluíram as pendentes randômicas, requeridas em função da relação entre os fatores fixos e aleatórios, para manter o erro de tipo I ao nível de 5% (Baayen 2008; Schielzeth & Forstmeier 2009). Os pressupostos (normalidade dos resíduos, colinearidade, etc.) foram testados e não apresentaram desvios óbvios. A inferência do modelo foi estabelecida por comparações de modelos completos (com todos os fatores) e nulos (sem os fatores de interesse ou fixos), usando um teste de razão de verossimilhança com a função R anova (Dobson 2002; Forstmeier & Schielzeth 2011).

A fim de verificar a variação na temperatura ao longo dos anos, utilizou-se uma ANOVA one-way, com os dados meteorológicos de Goiânia. Essa análise foi realizada no Statistica 7.0 (Inc. 2005). A significância adotada para todos os testes foi  $p < 0,05$ .

### 3.3 RESULTADOS

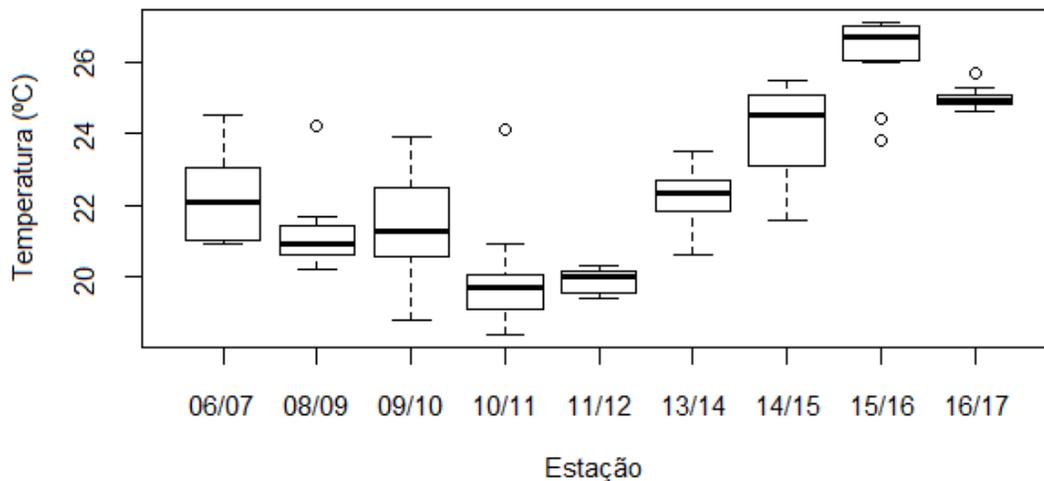
O resultado obtido pelo primeiro GLMM mostrou uma relação entre as estações reprodutivas e a temperatura do ar, uma vez que o modelo completo foi significativamente diferente do modelo nulo ( $\chi^2 = 6,84$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0,009$ ). Um aumento de  $0,39$  °C ao ano foi registrado, no decorrer das estações reprodutivas, na temperatura medida durante as gravações dos indivíduos (Tabela 1, Fig. 1). Entretanto, o tamanho corporal ( $\chi^2 = 1,92$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0,17$ ) e número de indivíduos gravados ( $\chi^2 = 0,25$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0,62$ ) não apresentaram valores significativos em relação a temperatura.

Tabela 1. Coeficientes de regressão estimados, erro padrão e valor de p, para GLMM configurado a partir da temperatura do ar registrada em amostragem com *Dendropsophus minutus*, ao longo de um gradiente temporal.

Variável	Coefficiente	Erro padrão	P
<b>Intercepto</b>	-762,3	265,7	-
<b>Estação</b>	0,390	0,132	p < 0,05
<b>CRC*</b>	-0,130	0,092	p > 0,05
<b>Número Inds,</b>	-0,035	0,062	p > 0,05

\*z-transformado. Modelo incluiu como fator fixo a estação reprodutiva (2006 - 2007, 2008 - 2009, 2009 - 2010, 2010 - 2011, 2011 - 2012, 2013 - 2014, 2014 - 2015, 2015 - 2016, 2016 - 2017), o CRC dos indivíduos e o número de indivíduos gravados por ano como covariáveis, e a noite no ano referente à coleta como fator randômico. O intercepto não apresenta valor de p.

Fig. 1 - Temperatura do ar durante as gravações dos indivíduos ao longo das estações reprodutivas de *Dendropsophus minutus*.



Por outro lado, foi verificada também uma variação no tamanho corporal (CRC) durante o gradiente temporal amostrado ( $\chi^2 = 4,50$ , gl = 1, p = 0,034). O tamanho corporal dos indivíduos

aumentou 0,105 mm ao longo das estações reprodutivas (Tabela 2, Fig. 2). Esse GLMM configurado para o CRC indicou, também, um efeito do número de indivíduos gravados por ano ( $x^2 = 4,30$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0,038$ ), mas não da temperatura durante os registros ( $x^2 = 0,39$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0,53$ ), o que demonstra a ausência da influência da temperatura no tamanho do corpo de *D. minutus*. Entretanto, uma associação entre a massa do indivíduo e o gradiente temporal não foi identificada ( $x^2 = 0,52$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0,47$ ).

Tabela 2. Coeficientes de regressão estimados, erro padrão e valor de p, para GLMM configurado para o CRC e a massa dos indivíduos de *Dendropsophus minutus* amostrados ao longo de um gradiente temporal.

	Variável	Coefficiente	Erro padrão	p
<b>CRC</b>	Intercepto	-188,5	96,1	-
	Estação	0,105	0,048	$p < 0,05$
	Temperatura*	-0,091	0,145	$p > 0,05$
	Número Inds,	0,044	0,021	$p < 0,05$
<b>Massa</b>	Intercepto	7,5	9,04	-
	Estação	-0,003	0,004	$p > 0,05$
	Temperatura*	0,016	0,014	$p > 0,05$
	Número Inds,	0,002	0,002	$p > 0,05$

\*z-transformado. Modelo incluiu como fator fixo a estação reprodutiva (2006 - 2007, 2008 - 2009, 2009 - 2010, 2010 - 2011, 2011 - 2012, 2013 - 2014, 2014 - 2015, 2015 - 2016, 2016 - 2017), a temperatura do ar e o número de indivíduos gravados por ano como covariáveis, e a noite no ano referente à coleta como fator randômico. O intercepto não apresenta valor de p.

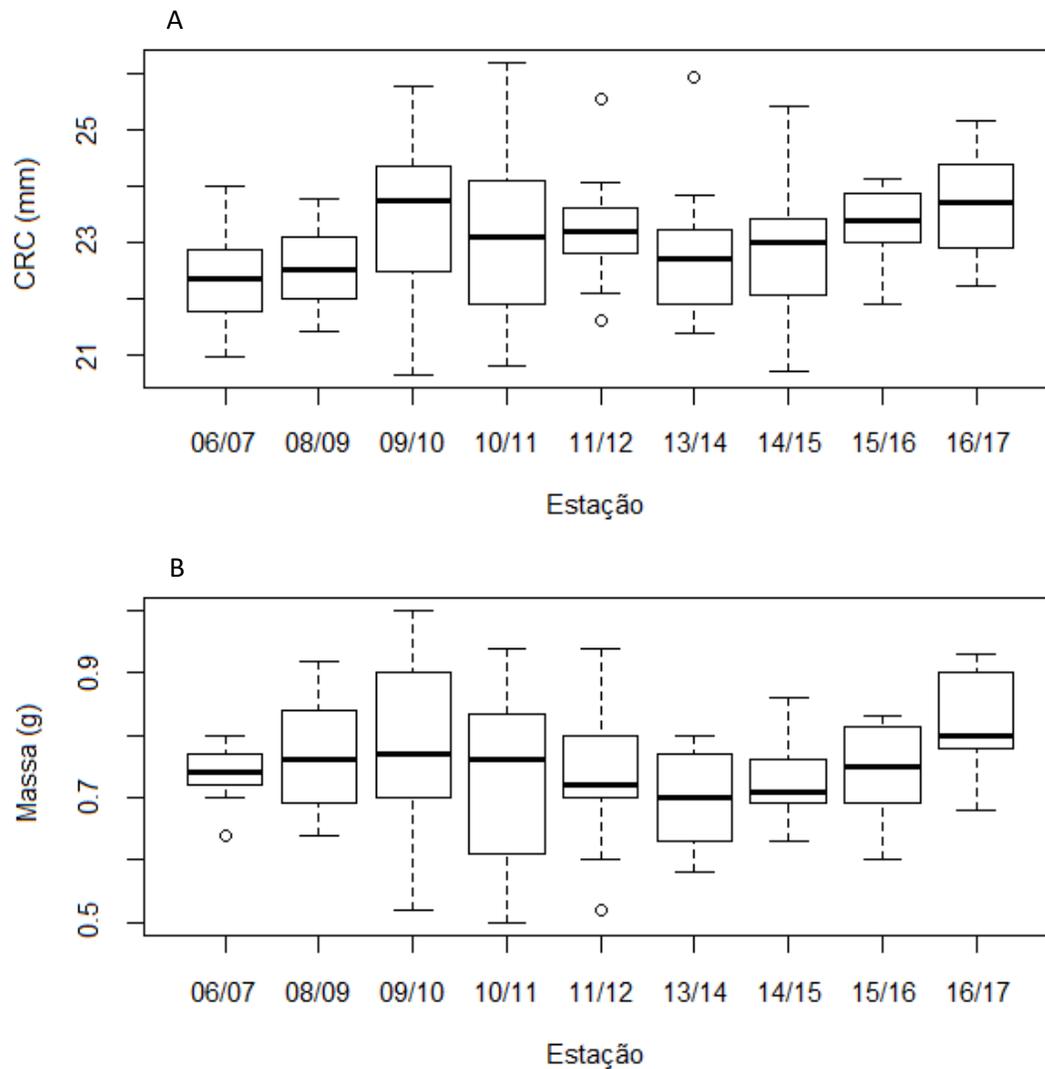


Fig. 2 – Comprimento rostral-cloacal (A) e massa (B) dos indivíduos de *Dendropsophus minutus* amostrados no decorrer das estações reprodutivas.

Finalmente, os GLMMs para os parâmetros acústico demonstraram a ausência de relações significativas entre as propriedades acústicas e a estação reprodutiva, comparando-se os modelos completos e nulos entre os seguintes parâmetros acústicos e o fator fixo (estação reprodutiva): duração do canto ( $x^2 = 0.17$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0.068$ ), frequência dominante ( $x^2 = 1.14$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0.285$ ), frequência fundamental ( $x^2 = 0.00$ ,  $gl = 1$ ,  $p = 0.973$ ), taxa de repetição ( $x^2 = 2.95$ ,  $gl = 4$ ,  $p = 0.566$ )

(Tabela 3, Fig. 3). Além disso, análise de variância não mostrou diferenças significativas nas temperaturas médias anuais ao longo das estações reprodutivas, e nem entre o período inicial e final do estudo ( $p > 0,05$ ).

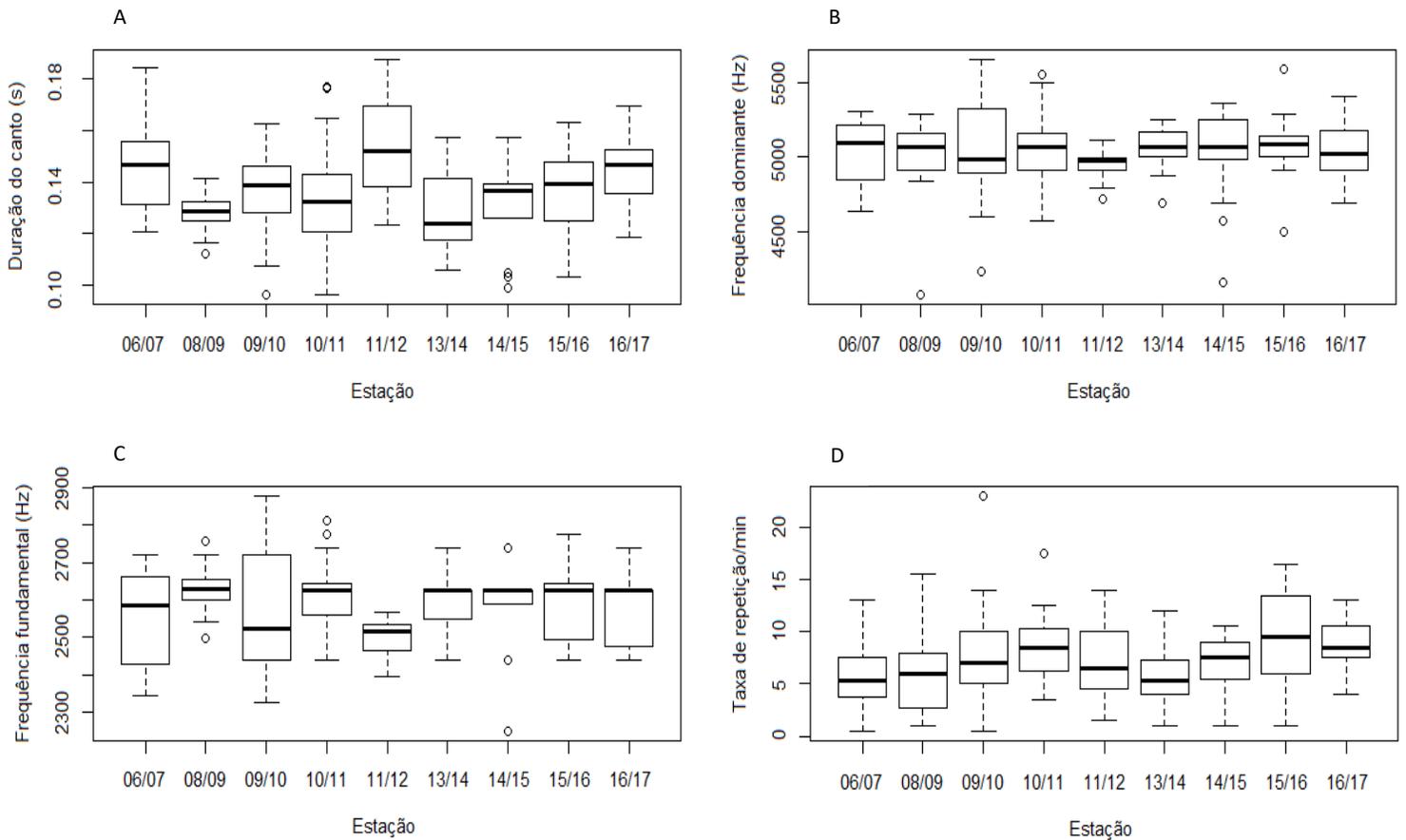


Fig. 3 - Variação dos parâmetros acústicos (duração do canto (A), frequência dominante (B), frequência fundamental (C) e taxa de repetição (D)) de *Dendropsophus minutus* amostrados nas respectivas estações reprodutivas.

Tabela 3. Coeficientes de regressão estimados e erro padrão para GLMMs configurados para as variáveis acústicas de *Dendropsophus minutus* gravados ao longo de um gradiente temporal.

<b>Parâmetro acústico</b>	<b>Variável</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>Erro padrão</b>
<b>Duração do canto</b>	Intercepto	-0,650	1,767
	Estação	0,0004	0,0009
	Temperatura*	-0,004	0,003
	CRC*	-0,0001	0,002
	Número Inds,	-0,0005	0,0004
<b>Frequência Dominante</b>	Intercepto	-20435,101	21898,809
	Estação	12,600	10,884
	Temperatura*	11,148	35,134
	CRC*	-98,739	27,510
	Número Inds,	8,620	4,798
<b>Frequência Fundamental</b>	Intercepto	2846,961	8485,098
	Estação	-0,163	4,218
	Temperatura*	17,970	18,138
	CRC*	-41,435	11,727
	Número Inds,	4,289	2,284
<b>Taxa de Repetição</b>	Intercepto	-117,432	64,818
	Estação	0,059	0,032
	Temperatura*	-0,026	0,124
	CRC*	-0,043	0,069
	Número Inds,	0,034	0,017

\*z-transformado. Modelos incluíram como fator fixo a estação reprodutiva (2006 - 2007, 2008 - 2009, 2009 - 2010, 2010 - 2011, 2011 - 2012, 2013 - 2014, 2014 - 2015, 2015 - 2016, 2016 - 2017), como covariáveis a temperatura e o CRC dos indivíduos, e como fator randômico a noite no ano referente à coleta.

### 3.4 DISCUSSÃO

As análises da temperatura com os dados obtidos no momento do canto, mostraram um aumento térmico do ar considerável, no decorrer das estações reprodutivas. Apesar disso, de acordo com dados meteorológicos fornecido pelo INMET, a temperatura média ao longo do ano não apresentou variações significativas. Entretanto, no que diz respeito a influência da temperatura com os parâmetros acústicos, a temperatura do momento da amostragem é a que tem maior importância para o estudo, já que a relação entre ambos fatores (temperatura e parâmetro) se dá momentaneamente, no caso das propriedades temporais, que envolvem a atividade muscular; ou ainda, essa relação faz referência a época do desenvolvimento dos ovos e girinos, no caso das propriedades espectrais.

O aumento do corpo dos animais em 0,105 mm/estação no decurso do período de tempo estudado pode parecer insignificante aos primeiros olhares, entretanto dentro de muitos anos, esse aumento pode representar um fator de sobrevivência em *D. minutus*, já que o tamanho é um dos primeiros parâmetros ligados a alterações morfológicas das espécies, que conduzem a uma nova oportunidade ecológica ou especialização a um determinado ambiente (Williams 1972; Losos 2010). Nesse sentido, o aumento do CRC pode ser associado às taxas evaporativas de água, que são correlacionadas com a relação superfície-volume; assim um mecanismo para diminuir a dessecação dos organismos em ambientes secos, é que os mesmos aumentem o tamanho do corpo (MacLean 1985; Olalla-Tárraga et al. 2009). Além disso, outras variáveis podem desempenhar um influente papel no tamanho corporal, como a precipitação, que foi considerada o fator ambiental preditor mais importante no tamanho dos anuros, explicando 61.9% do tamanho dos indivíduos de *D. minutus* em outro estudo (Oyamaguchi 2016); ou a disponibilidade de recursos para completar o desenvolvimento, que depende da densidade (Green & Middleton 2013).

A temperatura está relacionada a funções que envolvem o funcionamento de músculos (Navas & Bevier 2001), e com isso uma série de estudos têm sido realizados investigando o efeito da temperatura nos cantos de anuros (Zweifel 1968; Navas & Bevier 2001; Wong et al. 2004; Lingnau & Bastos 2007; Llusia et al. 2013; Narins & Meenderink 2014). Muitos trabalhos encontraram indícios da influência da temperatura nas propriedades consideradas por este estudo: duração do canto (Zweifel 1968; Lörcher 1969; Schneider 1974; Wong et al. 2004; Gasser et al. 2009; Morais et al. 2012; Gambale et al. 2014; Vieira et al. 2016), frequência dominante (Zweifel 1968), frequência fundamental (Lörcher 1969; Schneider 1977), taxa de repetição (Lörcher 1969;

Lörcher & Schneider 1973; Schneider 1977; Gasser et al. 2009), e em outras (Zweifel 1968; Lörcher & Schneider 1973; Schneider 1974; Nali & Prado 2014; Signorelli et al. 2016). Alguns estudos não encontraram associação entre propriedades acústicas e temperatura (Guerra et al. 2017; Gilbert & Bell 2018), como em nosso estudo. Dessa forma, observamos que a temperatura pode apresentar influência variável nas diferentes propriedades acústicas, em torno das espécies; não seguindo um padrão estabelecido.

A ausência da relação entre temperatura e os parâmetros acústicos, talvez seja explicado pelo fato de que, em grande parte das vezes, a plasticidade animal não consegue acompanhar as variações ambientais perfeitamente (Merilä & Hendry 2014). Assim, a inexistência de uma associação entre uma variável e o ambiente, pode não significar que o ambiente não seja um fator de importância em determinado parâmetro. Um outro ponto a se considerar é que o aumento da temperatura, muitas vezes, coincide com outras alterações ambientais que explicam variações fenotípicas. Dessa forma, pode ser que uma variação em certa característica não seja causada, especificamente, pelo aquecimento térmico (Merilä & Hendry 2014), mas pela diminuição da precipitação, por exemplo, que foi considerada a variável mais influente no tamanho corporal para *D. minutus* (Oyamaguchi 2016).

Este estudo demonstrou que a temperatura, apesar de ser uma variável importante nos traços da história de vida dos anfíbios anuros, não influenciou os parâmetros acústicos analisados de *Dendropsophus minutus*, bem como o tamanho do corpo dos indivíduos. Entretanto, durante o gradiente temporal estudado, os indivíduos mostraram um aumento significativo em seu tamanho. Essas informações são relevantes dado o longo espaço de tempo analisado, uma vez que nos leva a conhecer e entender melhor a história de vida da espécie, bem como os fatores que podem influenciar no tamanho corporal de espécies pequenas.

## REFERÊNCIAS

- Baayen RH. 2008. Analyzing linguistic data: a practical introduction to statistics. Cambridge University Press.
- Bates D, Maechler M, Bolker B, Walker S. 2014. lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4. R Package Version 1.
- Bioacoustics Research Program. 2011. Raven Pro: Interactive Sound Analysis Software (Version 1.4) [Computer software]. Ithaca, NY: The Cornell Lab of Ornithology. Disponível em: <http://www.birds.cornell.edu/raven>.
- Boaratti AZ, Da Silva FR. 2015. Relationships between environmental gradients and geographic variation in the intraspecific body size of three species of frogs (Anura). *Austral Ecol.* 40:869-876.
- Charif RA, Waack AM, Strickman LM. 2010. *Raven Pro 1.4 User's Manual*. Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, NY.
- Dobson AJ. 2002. *An Introduction to Generalized Linear Models*, 2nd ed. Boca Raton: Chapman and Hall.
- Forstmeier W, Schielzeth H. 2011. Cryptic multiple hypotheses testing in linear models: overestimated effect sizes and the winner's curse. *Behav Ecol Sociobiol.* 65:47-55.
- Gambale PG, Signorelli L, Bastos RP. 2014. Individual variation in the advertisement calls of a Neotropical treefrog (*Scinax constrictus*). *Amphibia-Reptilia.* 35:271-281.
- Gasser H, Amezcua A, Hoedl W. 2009. Who is calling? Intraspecific call variation in the arboreal frog *Allobates femoralis*. *Ethology.* 115:596-607.
- Gilbert CM, Bell RC. 2017. Evolution of advertisement calls in an island radiation of African reed frogs. *Biol J Linn Soc.* 123:1-11.
- Green DM, Middleton J. 2013. Body size varies with abundance, not climate, in an amphibian population. *Ecography.* 36:947-955.
- Guerra V, Lingnau R, Bastos RP. 2017. Vocalizations and Bioacoustic Analysis of *Boana jaguariaivensis* (Caramaschi, Cruz, and Segalla 2010) (Anura: Hylidae). *S Am J Herpetol.* 12:34-41.
- Herreid CF, Kinney S. 1967. Temperature and development of the wood frog, *Rana sylvatica*, in Alaska. *Ecology.* 48:579-590.

- Huey RB, Deutsch CA, Tewksbury JJ, Vitt LJ, Hertz PE, Pérez HJÁ, Garland T. 2009. Why tropical forest lizards are vulnerable to climate warming. *P Roy Soc Lond B Bio.* 276:1939-1948.
- Inc., S., 2005. Statistica (data analysis software system) version 7.1.
- Lingnau R, Bastos RP. 2007. Vocalizations of the Brazilian torrent frog *Hylodes heyeri* (Anura: Hylodidae): Repertoire and influence of air temperature on advertisement call variation. *J Nat Hist.* 41:1227-1235.
- Llusia D, Márquez R, Beltrán JF, Benítez M, Do Amaral JP. 2013. Calling behaviour under climate change: geographical and seasonal variation of calling temperatures in ectotherms. *Glob Change Biol.* 19:2655-2674.
- Lörcher K. 1969. Vergleichende bio-akustische Untersuchungen an der Rot-und Gelbbauchunke, *Bombina bombina* (L.) und *Bombina v. variegata* (L.). *Oecologia.* 3:84-124.
- Lörcher K, Schneider H. 1973. Vergleichende bio-akustische Untersuchungen an der Kreuzkröte, *Bufo calamita* (Laur.), und der Wechselkröte, *Bufo v. viridis* (Laur.). *Ethology.* 32:506-521.
- Losos JB. 2010. Adaptive radiation, ecological opportunity, and evolutionary determinism. *Am Soc Nat.* 175: 623-639.
- MacLean WP. 1985. Water-loss rates of *Sphaerodactylus parthenopion* (Reptilia: Gekkonidae), the smallest amniote vertebrate. *Comp Biochem Physiol.* 82:759-761.
- Merilä J, Hendry AP. 2014. Climate change, adaptation, and phenotypic plasticity: the problem and the evidence. *Evol Appl.* 7:1-14.
- Ministerio do Meio Ambiente. 2011. Monitoramento do desmatamento nos biomas brasileiros por satélite: Acordo de cooperação técnica MMA/IBAMA - Monitoramento do bioma Cerrado. Brasília. Disponível em: [http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf\\_chm\\_rbbio/\\_arquivos/relatoriofinal\\_cerrado\\_2010\\_final\\_72\\_1.pdf](http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf_chm_rbbio/_arquivos/relatoriofinal_cerrado_2010_final_72_1.pdf)
- Morais AR, Batista VG, Gambale PG, Signorelli L, Bastos RP. 2012. Acoustic communication in a Neotropical frog (*Dendropsophus minutus*): vocal repertoire, variability and individual discrimination. *Herpetol J.* 22:249-257.
- Narins PM, Meenderink SWF. 2014. Climate change and frog calls: longterm correlations along a tropical altitudinal gradient. *Proc. R. Soc. B.* 281: 20140401.

- Nali RC, Prado CP. 2014. Complex call with different messages in *Bokermannohyla ibitiguara* (Anura, Hylidae), a gladiator frog of the Brazilian Cerrado. *J Herpetol.* 48:407-414.
- Navas CA, Bevier CR. 2001. Thermal dependency of calling performance in the eurythermic frog *Colostethus subpunctatus*. *Herpetologica.* 57:384-395.
- Navas CA, Gomes FR, Carvalho JE. 2008. Thermal relationships and exercise physiology in anuran amphibians: integration and evolutionary implications. *Comp Biochem Phys A.* 151:344-362.
- Ohlberger, J. 2013. Climate warming and ectotherm body size—from individual physiology to community ecology. *Funct Ecol.* 27: 991-1001.
- Olalla-Tárraga MÁ, Diniz-Filho JAF, Bastos RP, Rodríguez MÁ. 2009. Geographic body size gradients in tropical regions: water deficit and anuran body size in the Brazilian Cerrado. *Ecography.* 32:581-590.
- Oyamaguchi HM, Oliveira E, Smith TB. 2016. Environmental drivers of body size variation in the lesser treefrog (*Dendropsophus minutus*) across the Amazon-Cerrado gradient. *Biol J Linn Soc.* 120:363-370.
- Pielke RA, Marland G, Betts RA, Chase TN, Eastman JL, Niles JO, Running SW. 2002. The influence of land-use change and landscape dynamics on the climate system: relevance to climate-change policy beyond the radiative effect of greenhouse gases. *Philos T Roy Soc A.* 360:1705-1719.
- R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. Austria: Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <http://www.R-project.org/>.
- Ryan MJ. 1986. Factors influencing the evolution of acoustic communication: biological constraints. *Brain Behav Evolut.* 28:70-82.
- Salazar A, Katzfey J, Thatcher M, Syktus J, Wong K, McAlpine C. 2016. Deforestation changes land-atmosphere interactions across South American biomes. *Global Planet Change.* 139:97-108.
- Schielzeth H, Forstmeier W. 2008. Conclusions beyond support: overconfident estimates in mixed models. *Behav Ecol.* 20:416-420.
- Schneider H. 1974. Structure of the mating calls and relationships of the European tree frogs (Hylidae, Anura). *Oecologia.* 14:99-110.

- Schneider H. 1977. Acoustic behavior and physiology of vocalization in the European tree frog, *Hyla arborea* (L.). In Taylor DH, editor. The reproductive biology of amphibians. Springer: Boston; p. 295-335.
- Scholes RJ, Archer SR. 1997. Tree-grass interactions in savannas. *Annu Rev Ecol Syst.* 28:517-544.
- Signorelli L, Morais AR, Vieira RR, Bastos RP. 2016. Vocalizations of *Hypsiboas goianus* (Lutz, 1968) (Anura: Hylidae) in Central Brazil. *Stud Neotrop Fauna E.* 51:188-196.
- Sinervo B, Mendez-De-La-Cruz F, Miles DB, Heulin B, Bastiaans E, Villagrán-Santa Cruz M, Lara-Resendis R, Martínez-Méndez N, Calderón-Espinosa ML, Meza-Lázaro RN, et al. 2010. Erosion of lizard diversity by climate change and altered thermal niches. *Science.* 328:894-899.
- Vieira RRS, Batista VG, Bastos RP. 2016. Acoustic communication in two species of the *Hypsiboas albopunctatus* group (Anura: Hylidae) in sympatry and allopatry. *Zoologia-Curitiba.* 33:e20150037.
- Vitt LJ, Caldwell JP. Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles, 4th ed. China: Academic Press.
- Wells KD. 2007. The ecology and behavior of amphibians. Chicago: University of Chicago Press.
- Williams EE. 1972. The origin of faunas. Evolution of lizard congeners in a complex island fauna: a trial analysis. In Dobzhansky T, Hecht MK., Steere WC, editors. *Evolutionary Biology.* Springer, Boston, MA. Evolutionary biology. Springer: Boston; 47-89.
- Wong B, Cowling ANN, Cunningham RB, Donnelly, CF. 2004. Do temperature and social environment interact to affect call rate in frogs (*Crinia signifera*)? *Austral Ecol.* 29:209-214.
- Zweifel RG. 1968. Effects of temperature, body size, and hybridization on mating calls of toads, *Bufo a. americanus* and *Bufo woodhousii fowleri*. *Copeia.* 2:269-285.

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo foi o primeiro a considerar um gradiente temporal tão amplo para a espécie *Dendropsophus minutus*, pelo que sabemos. Verificamos que a duração do pulso e a frequência fundamental foram influenciados pela temperatura e tamanho corporal dos anuros, os parâmetros espectrais foram classificados como estáticos, e os cantos de anúncio apresentaram variação ao longo das estações reprodutivas estudadas.

Além disso, apesar da temperatura ser uma variável importante para os anfíbios anuros, essa variável não influenciou os parâmetros acústicos analisados de *D. minutus*, bem como o tamanho do corpo. Entretanto, durante o gradiente temporal estudado, os indivíduos mostraram um aumento significativo em seu tamanho, sugerindo que a espécie se adapta às mudanças na temperatura; o que nos leva a um maior interesse e conhecimento a respeito da história de vida da espécie, bem como os fatores que podem influenciar no tamanho corporal de espécies pequenas.