

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MATHEUS RODRIGO SILVERIO

PADRÕES NA COMUNICAÇÃO ACÚSTICA EM *HYLODES HEYERI* HADDAD;
POMBAL; BASTOS



CURITIBA

2021

MATHEUS RODRIGO SILVERIO

PADRÕES NA COMUNICAÇÃO ACÚSTICA EM *HYLODES HEYERI* HADDAD;
POMBAL; BASTOS

Monografia apresentada como requisito parcial para
obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas
do Setor de Ciências Biológicas da Universidade
Federal do Paraná.

Orientador: Dr. Maurício O. Moura

Co-orientadora: Msc. Michelle Micarelli Struett

CURITIBA

2021

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que contribuíram de alguma forma para que eu pudesse chegar até aqui.

À minha mãe, pelo apoio incondicional que me forneceu nesses anos de curso.

Ao meu pai, que mesmo não estando mais aqui eu não poderia deixar de mencionar pelo apoio moral e financeiro aos meus estudos

Ao Prof. Maurício, por ter aceitado me orientar nesse trabalho, pela paciência ao responder minhas dúvidas, pelo tempo dedicado a me ajudar.

Á Michelle, pela contribuição com os dados, pela orientação e também pelos indispensáveis conselhos.

E por último, mas não menos importante, aos meus amigos Jhonn, Paola, Pedro e Rafael.

RESUMO

A comunicação desempenha um papel fundamental no comportamento e na dinâmica populacional de anuros. Embora haja mais de uma maneira de se comunicar, a estratégia predominante em Anura é a comunicação acústica. Desses, o canto de anúncio é emitido pelo macho como um sinal de reconhecimento do parceiro. Nos cantos de anúncio, as propriedades sonoras, ou parâmetros acústicos, são afetados pelo fenótipo e pelo ambiente. No geral, temperatura, umidade, presença de predadores, parasitos, ruído ambiental (e.g. sistemas lóticos e cachoeiras) e barreiras acústicas (e.g. encostas e cobertura vegetal) podem afetar os cantos. Portanto, diferenças na estrutura dos cantos de anúncio podem indicar adaptação às condições locais. Assim, o presente trabalho busca diferenças na estrutura do canto de anúncio de *Hylodes heyeri* Haddad, Pombal e Bastos em duas escalas distintas: entre indivíduos e entre populações. A questão principal é: os indivíduos possuem uma estrutura acústica específica (uma assinatura) ao vocalizar? Além disso, existe um padrão geográfico na estrutura do canto de anúncio? Vocalizações gravadas *in loco* da população de São José dos Pinhais foram utilizadas e as restantes obtidas de um repositório digital ou levantadas da bibliografia. Outras populações foram analisadas usando dados publicados. Com esse banco de dados, testamos se a estrutura dos cantos de anúncio, no aspecto qualitativo e nos parâmetros acústicos quantitativos, varia entre indivíduos e entre populações. A relação dos parâmetros acústicos com o tamanho corporal e fatores abióticos, como temperatura e umidade, também foi avaliada. Além disso, o grau de variação dos parâmetros acústicos foi determinado usando o coeficiente de variação. Por fim, a Análise de Componentes Principais foi utilizada para visualizar a distribuição de indivíduos e populações em um espaço acústico formado pelos componentes principais. Por meio da Análise de Componentes Principais, foi demonstrado que é possível detectar diferenças na comunicação de *Hylodes heyeri* nas duas escalas, dentro e entre as populações. Na população, há indivíduos que investiram em cantos mais longos e aqueles que investiram em cantos mais curtos, com períodos de silêncio mais longos e com maior número de notas por segundo. Essa mesma variação pode ser encontrada em uma escala espacial maior, entre as populações. A variação das propriedades do canto de anúncio entre as populações mostrou um padrão latitudinal e longitudinal na estrutura do canto.

Palavras-chave: canto de anúncio, parâmetros acústicos, variação.

ABSTRACT

Communication plays a fundamental role in Anura behavior and population dynamics. Although there is more than one way to communicate, the predominant strategy in Anura is to rely on acoustic communication. Of these, the advertisement call is emitted by the male as a mate recognition signal. In the advertisement calls the sound properties, or acoustic parameters, are influenced by the phenotype and by the environment. Overall, temperature, humidity, the presence of predators, parasites, environmental noise (e.g. lotic systems and waterfalls), and noise barriers (e.g., slopes and vegetation cover) can affect the advertisement call. Differences in advertisement call structure may indicate adaptations to local conditions. So, the present work sheds light on differences in the advertisement call structure of *Hylodes heyeri* Haddad, Pombal and Bastos at two different scales: between individuals and among populations. The main question is do individuals have a particular acoustic structure (a signature) when calling? Also, is there a geographic pattern in the structure of the advertisement call? Recordings used were from three sources, field recordings (São José dos Pinhais population), digital repositories or from literature (all other populations). With this database, we tested whether the advertisement call structure, in qualitative aspect and quantitative acoustic parameters, varies between individuals and among populations. The relationship of the acoustic parameters with body size and abiotic factors, such as temperature and humidity, was also tested. Also, the degree of variation of the acoustic parameters was determined using the coefficient of variation. Finally, a Principal Component Analysis was used to visualize the distribution of individuals and populations in an acoustic space formed by the principal components. Through Principal Component Analysis it was demonstrated that it is possible to detect differences in *Hylodes heyeri* communication at the two scales, within and among populations. Within the population, some individuals invested in longer calls and those who invested in shorter calls, with longer periods of silence and with a greater number of notes per second. This same variation can be found at a larger spatial scale, among populations. The variation of the advertisement call properties among populations showed a latitudinal and longitudinal pattern in call structure.

Keywords: advertisement call, acoustic parameters, variation.

LISTA DE SIGLAS

IUCN – União Internacional para a Conservação da Natureza

CRC – Comprimento Rostro-Cloacal

CV – Coeficiente de Variação

FFT – *Fast Fourier Transform*

ACP – Análise dos Componentes Principais

PC – Componente Principal (*Principal Component*)

EL – Eldorado-SP

IP – Iporanga-SP,

MO – Morretes-PR,

PI – Piraquara-PR,

SJ – São José dos Pinhais-PR,

GU – Guaratuba-PR,

GA – Garuva-SC e

JO – Joinville-SC

SNR – *Signal-to-Noise Ratio*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Oscilo-espectrograma do canto de anúncio do Indivíduo 2 de <i>Hylodes heyeri</i> da população de São José dos Pinhais-PR.....	18
Figura 2 – Densidade espectral do canto de anúncio do Indivíduo 2 da população de São José dos Pinhais-PR.....	19
Figura 3 – Análise dos Componentes Principais dos parâmetros acústicos de <i>Hylodes heyeri</i> de São José Dos Pinhais.....	22
Figura 4 – Oscilo-espectrograma do canto de anúncio do indivíduo de <i>Hylodes heyeri</i> da população de Iporanga-SP (IP)..	23
Figura 5 – Oscilo-espectrograma do canto de anúncio de um Indivíduo de <i>Hylodes heyeri</i> da população de Piraquara-PR (PI)..	24
Figura 6 – Espectrograma (acima) e Oscilograma (abaixo) do canto de anúncio de <i>Hylodes Heyeri</i> da população de Morretes-PR (MO).....	24
Figura 7 – Oscilograma (acima) e Espectrograma (abaixo) do canto de anúncio de <i>Hylodes Heyeri</i> da população 1 de Joinville-SC (JO1)..	25
Figura 8 – Média dos parâmetros acústicos das populações de <i>Hylodes heyeri</i>	27
Figura 9 – Médias da temperatura e do Comprimento Rostro-Cloacal das populações de <i>Hylodes heyeri</i>	28
Figura 10 – Distribuição geográfica das populações de <i>Hylodes heyeri</i> analisadas.....	29
Figura 11 – Faixas climáticas em que estão inseridas as populações analisadas.....	29
Figura 12 – Formações vegetais em que estão inseridas as populações analisadas	30
Figura 13 – Análise dos Componentes Principais dos parâmetros acústicos entre populações de <i>Hylodes heyeri</i>	31

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Informações levantadas das gravações e cantos de <i>Hylodes heyeri</i>	13
Tabela 2 – Médias dos parâmetros acústicos da população de São José dos Pinhais-PR ...	21
Tabela 3 – Parâmetros e Coeficiente de Variação da população de <i>Hylodes heyeri</i> (N=13) de São José Dos Pinhais-PR.....	21
Tabela 4 – <i>Loadings</i> dos Componentes Principais 1 e 2 da Análise dos Componentes Principais intrapopulacional	22
Tabela 5 – <i>Loadings</i> dos Componentes Principais 1 e 2 da Análise Dos Componentes Principais das Populações.....	31

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. MATERIAL E MÉTODOS	12
2.1 AQUISIÇÃO DAS GRAVAÇÕES DE CAMPO, DE REPOSITÓRIOS E LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO.....	12
2.2 EXTRAÇÃO DOS DADOS E ANÁLISES ESTATÍSTICAS	13
2.3 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS	15
2.4 MAPAS E LEVANTAMENTO DE DADOS DAS POPULAÇÕES.....	16
3. RESULTADOS	17
3.1 ANÁLISE INTRAPOPULACIONAL	17
3.1.1 ESTRUTURA DO CANTO DE ANÚNCIO E PARÂMETROS ACÚSTICOS	17
3.1.2 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO E ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS	20
3.1.3 RELAÇÃO DOS PARÂMETROS ACÚSTICOS COM FATORES ABIÓTICOS E O TAMANHO DO CORPO	22
3.2 ANÁLISE ENTRE POPULAÇÕES	23
3.2.1 ESTRUTURA DO CANTO DE ANÚNCIO E PARÂMETROS ACÚSTICOS	23
3.2.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E FATORES AMBIENTAIS DAS POPULAÇÕES	28
3.2.3 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS E CORRELAÇÃO COM FATORES FÍSICOS E GEOGRÁFICOS	30
4. DISCUSSÃO	31
4.1 ANÁLISE INTRAPOPULACIONAL	32
4.2 VARIAÇÃO ENTRE POPULAÇÕES	35
REFERÊNCIAS	38
APÊNDICE 1 - OSCILO-ESPECTROGRAMAS DOS INDIVÍDUOS ANALISADOS	43

1. INTRODUÇÃO

A comunicação desempenha um papel fundamental para unidades biológicas em processos como reprodução, cooperação, defesa contra predadores entre outros. Anfíbios anuros recorrem aos cantos como sua principal forma de comunicação acústica (GERHARDT; HUBER, 2002). Os cantos carregam informações sobre o indivíduo que os emite, como seu sexo, sua condição física, sua idade, sua espécie, bem como sua identidade individual (GERHARDT, 1992). A maioria das espécies em Anura possui diferentes tipos de cantos, usados em diferentes situações sociais (POUGH et al., 2008). Desses, o canto de anúncio é geralmente utilizado no reconhecimento de coespecíficos (WELLS, 1977; GERHARDT, 1994a). Em espécies territoriais, os machos defendem seu território contra coespecíficos invasores e geralmente emitem vocalizações agressivas distintas, chamadas de cantos territoriais (WELLS, 2010). Os cantos mais estudados são os cantos de anúncio, pois (1) são as vocalizações mais frequentes e mais fáceis de serem gravadas e (2) são emitidas num contexto de cortejo, carregando informações específicas da espécie (KÖHLER, et al., 2017).

Embora específicos esses padrões de comunicação não são imutáveis, já que sua expressão depende do contexto social e ambiental. Os cantos de anúncio possuem propriedades sonoras que podem ser alteradas por fatores ligados à diversidade fenotípica ou por fatores adaptativos (KÖHLER et al., 2017; ZIEGLER et al., 2015). Entre os fatores fenotípicos, estão os efeitos do tamanho e massa do corpo do indivíduo nas propriedades sonoras dos cantos (WELLS, 1997; WELLS, 2010). Entre os fatores adaptativos estão aqueles que são relacionados a como os organismos respondem ao ambiente em que estão inseridos, influenciados por fatores como temperatura, umidade, presença de predadores, parasitos, ruídos do ambiente (e.g. sistemas lóticos e cachoeiras), vocalizações de outras espécies e barreiras sonoras (e.g. declives e cobertura vegetal) (ERDTMANN; LIMA, 2013; FORTI et al., 2015; GERHARDT; HUBER, 2002). Por serem emitidos num contexto de corte, os cantos de anúncio também sofrem forte seleção sexual, com diferentes características desses cantos passíveis de alteração na sua na sua variação dentro de uma população (GERHARDT, 1994b; REINHOLD, 2011).

Estudos comparativos entre populações nos fornecem indícios sobre quais pressões seletivas estão agindo nos indivíduos e como estes respondem a essas

pressões. A perda de habitat, aplicação direta de componentes tóxicos, introdução de predadores e competidores e a fragmentação florestal são as principais ameaças à biodiversidade dos anfíbios (CAREY, et al. 1999; METZGER, 2002; STUART et al., 2004). O isolamento das populações ocasiona uma variação nas características fenotípicas devido às diferenças nas pressões seletivas locais, como estrutura ambiental, microclima ou assembleias de espécies específicas do local (BOSCH; DE LA RIVA, 2004) e desta forma é possível avaliar as diferenças entre populações separadas geograficamente (FORTI, et al. 2014). Portanto, a análise comparativa entre as propriedades dos cantos auxilia também no entendimento sobre as condições ambientais de cada população e contribui para determinar o *status* de conservação de uma espécie (EY; FISCHER, 2009; FORTI, et al. 2014).

Embora haja uma grande riqueza, há muitas espécies de anuros com pouca informação acerca do seu *status* de conservação. Os anfíbios referidos como anuros (e.g. sapos, rãs e pererecas) pertencem a ordem Anura, que possui atualmente 7338 espécies (FROST, 2021). No Brasil, são reconhecidas 1188 espécies de anuros, distribuídas em 20 famílias (SEGALLA et al., 2021). Segundo a IUCN, referência na conservação da biodiversidade global, 16,5% das espécies de anuros estão classificadas como deficiente em dados (DD) sobre seu *status* de conservação (IUCN, 2021). A base de dados da IUCN dizem respeito à 6340 espécies de anuros, logo estão desatualizados e a quantidade de espécies deficiente em dados é subestimada.

A família Hylodidae é composta por três gêneros: *Crossodactylus* Duméril; Bibron, 1841, *Megaelosia* Miranda-Ribeiro, 1923, *Hylodes* Fitzinger 1826 e *Phantasmarana* Vittorazzi; Augusto-Alves; Neves-da-Silva; Carvalho-e-Silva; Recco-Pimentel; Toledo; Lourenço; Bruschi, 2021 e é composta de anuros que estão associados à Mata Atlântica (VITTORAZZI et al., 2021; LAIA; ROCHA, 2012). As espécies do gênero *Hylodes* são as mais representativas, possuem hábito diurno e ocorrem em riachos e córregos com terreno acidentado, formando cachoeiras e pequenas quedas d'água, por isso são popularmente denominadas rãs-das-cachoeiras e estão distribuídas do estado do Espírito Santo ao sul passando pelo Rio de Janeiro e São Paulo até o Rio Grande do Sul, no sul do Brasil. (FROST, 2021; HADDAD; POMBAL, 1995; HADDAD; GIARETTA, 1999) Ambientes com essas características produzem um constante ruído gerado pela água corrente e essas espécies, chamadas de reofilicas, sofreram adaptações na sua forma de

comunicação, passando a incluir sinais visuais, táteis e cantos com características específicas (BELTRAMIN, 2014; DE SÁ et al., 2016; NARVAES; RODRIGUES, 2005; VIELLIARD; CARDOSO, 1996; WELLS, 2010). Atualmente o gênero possui 26 espécies descritas (DE SÁ et al., 2015; FROST, 2021) e estão incluídas em quatro grupos: *H. lateristrigatus*, *H. nasus*, *H. glaber* e *H. mertensi* (HEYER, 1982).

A espécie *Hylodes heyeri* Haddad; Pombal; Bastos, 1996 pertence ao grupo *H. lateristrigatus*, o mais diverso em espécies dentro do gênero e ocorre em rios e riachos nos estados de São Paulo, Paraná e Santa Catarina (FROST, 2021). Pela categoria da IUCN, fora concluído que não há dados suficientes para categorizar o status de conservação da espécie (IUCN, 2021; SEGALLA; PAVAN, 2004). Conforme mencionado, estudos com os cantos de anúncio auxiliam no entendimento sobre as condições ambientais em que estão inseridas as populações de uma espécie. Além disso, por terem uma comunicação multimodal (acústica, visual e tátil) as espécies do gênero *Hylodes* também são ótimos modelos de estudos sobre comportamento e seleção sexual.

O presente trabalho buscará identificar diferenças na estrutura do canto de anúncio de *Hylodes heyeri* em duas escalas diferentes: entre indivíduos e entre populações. A ideia é determinar se existe assinatura dos indivíduos nas vocalizações, bem como se existe estrutura geográfica na forma do canto de anúncio. Os resultados potencialmente auxiliarão no entendimento sobre a espécie e seu habitat.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 AQUISIÇÃO DAS GRAVAÇÕES DE CAMPO, DE REPOSITÓRIOS E LEVANTAMENTO BIBLIOGRÁFICO

As gravações feitas em campo das populações de *Hylodes heyeri* foram cedidas diretamente por pesquisadores ou por intermédio de repositórios digitais. As gravações dos indivíduos de Iporanga - SP e de Piraquara - PR foram disponibilizadas pela Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard (FNJV), cujos números de identificação são 0040858 e 0033546, respectivamente. As gravações dos 13 indivíduos de São José dos Pinhais-PR foram cedidas pelo Laboratório de

Dinâmicas Ecológicas da UFPR (LDE - UFPR). Os Registros no momento da gravação, como temperatura (C°), umidade relativa (%) e comprimento rostro-cloacal (CRC) também foram disponibilizados para alguns dos cantos, assim como informações do gravador e microfone. Para as comparações entre as populações foram compilados também dados da literatura. As populações de *H. heyeri* receberam uma sigla correspondente à origem geográfica dos cantos (EL - Eldorado-SP, IP - Iporanga-SP, MO - Morretes-PR, PI - Piraquara-PR, SJ - São José dos Pinhais-PR, GU - Guaratuba-PR, GA - Garuva-SC e JO1 e JO2 - Joinville-SC). A Tabela 1 sumariza as informações levantadas a respeito das gravações recebidas e as descrições dos cantos levantados da literatura. Todas as gravações correspondem a cantos de anúncio de indivíduos machos adultos e identificados.

Tabela 1 – Informações levantadas das gravações e cantos de *Hylodes heyeri*

População	Fonte	Gravador	Microfone	Data	Cidade-UF	N° de indivíduos (cantos)
IP	FNJV	Marantz PMD222	*	01/2005	Iporanga-SP	1(4)
PI	FNJV	Marantz PMD-661	YOGA- HT-81	09/01/2017	Piraquara-PR	1(4)
SJ	LDE	Zoom H2NHandyRecorder	YOGA- HT-81	01 - 03/2019	São José dos Pinhais-PR	13(50)
MO	LIGNAU; BASTOS, 2007	Sony ECM	DAT TCD-D100	11/2001 - 04/2002	Morretes-PR	17(75-85)
JO1	MONTEIRO et al., 2014	Tascam DR-40	Rode NTG-2	10 - 12/2013	Joinville-SC	3(15)
JO2	COMITTI, 2016	Tascam-DR-07	ATR6550	*	Joinville-SC	3(*)
GU	COMITTI, 2016	Marantz PMD-660	Sennheiser ME 66	*	Guaratuba-PR	1(*)
GA	COMITTI, 2016	Tascam DR-40	Rode NTG-2	*	Garuva-SC	1(*)
EL	HADDAD et al., 1996	Nagra E	Sennheiser ME 80	11/1994	Eldorado-SP	13 (32-55)

NOTA: * Informações não encontradas

2.2 EXTRAÇÃO DOS DADOS E ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Inicialmente foram extraídos todos os cantos dos 13 indivíduos gravados da população de São José Pinhais-PR, o que resultou num total de 50 cantos. O ruído de fundo de todas as gravações foi suprimido, com exceção dos cantos cuja razão

sinal-ruído (do inglês *signal-to-noise ratio* - SNR) foi mensurada. As identificações dos cantos e as edições foram feitas com auxílio do programa Audacity® (versão 2.4.2). Cortaram-se os cantos dentro das gravações com o pacote *tuneR* e os parâmetros acústicos foram extraídos utilizando os pacotes *seewave*, e *warbleR* do programa de análise estatística R (versão 4.1.0) (ARAYA-SALAS; VIDAURRE, 2016; LIGGES et al., 2014; R-Development-Core-Team 2021; SUEUR et al., 2008; SEUER, 2018). Nas análises, o valor utilizado da probabilidade para se rejeitar a hipótese nula, também chamada de probabilidade de significância (valor-p), foi de 0,05.

A terminologia utilizada para as vocalizações, chamada *note-centered*, considera que a unidade fundamental é a nota. Assim, o canto corresponde à vocalização emitida durante uma única expiração do animal. Cada canto é composto por várias notas e essas são separadas por intervalos curtos de silêncio. Essa é a mesma terminologia utilizada na descrição da espécie por HADDAD et al. (1996). Parâmetros acústicos podem ser classificados em temporais e espectrais. Os parâmetros temporais são mensurados em unidades de tempo, como segundos (s) ou milésimos de segundos (ms) Os parâmetros espectrais são mensurados em taxas de repetição (ou frequência) como *hertz* (Hz) e *kilohertz* (kHz). A frequência dominante se refere à faixa de frequência onde está presente a maior energia, medida em decibéis (dB). A frequência fundamental se refere à faixa de frequência onde está presente a menor energia (KÖHLER et al., 2017).

Os parâmetros acústicos extraídos foram: (1) duração do canto (s), (2) número de notas, (3) frequência dominante (kHz), (4) frequência fundamental (kHz), (5) número de notas por segundo, (6) duração do intervalo entre os cantos (s), (7) duração das notas (s), (8) duração dos intervalos entre as notas (s) e a (9) razão sinal-ruído (SNR). A partir do teste de Shapiro-Wilk (ROYSTON, 1982) todos os parâmetros apresentaram distribuição normal dentro da população de São José dos Pinhais-PR e entre as populações.

Após a obtenção dos parâmetros do canto para todos os indivíduos, cada população foi caracterizada pela média (\pm desvio) de cada um dos parâmetros acústicos. Como os tamanhos amostrais variam bastante, foram padronizados três cantos por indivíduo (Tabela 2), totalizando 39 cantos de 13 indivíduos para a população de São José dos Pinhais-PR. Com isso, foi calculado o coeficiente de variação ($CV = (\text{desvio-padrão}/\text{média}) * 100$) dos parâmetros dentro da população

conforme estabelecido por GERHARDT (1991). Para testar se há relação entre os parâmetros acústicos medidos e as variáveis independentes obtidas em campo (temperatura, CRC e umidade relativa) foram usadas regressões lineares. Basicamente, os valores de r-quadrado (r^2) representam o valor da relação entre as variáveis e os valores de F ($F_{1,x}$) são as razões entre os modelos e os erros (CHAMBERS, 1992). Para isso, utilizaram-se as médias dos indivíduos, evitando assim a pseudo-replicação.

De acordo com KÖHLER e colaboradores (2017) a variação no canto de anúncio entre populações pode ser influenciada pelos seguintes fatores: geografia (e.g. barreiras geográficas, isolamento por distância, altitude, longitude, latitude), eventos históricos (e.g. mudanças climáticas, deriva genética), diferentes (micro e macro) ambientes, diferenças no tamanho do corpo e efeitos antrópicos (e.g. poluição sonora e espécies invasoras). Nem todos esses fatores puderam ser avaliados, de forma a relação entre os cantos de anúncio das populações e os dados que estavam disponíveis para a maioria (temperatura, a latitude e a longitude) foi avaliada através de uma regressão simples com cada parâmetro.

2.3 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS

Para buscar possíveis padrões nas distribuições das variáveis acústicas, utilizou-se a Análise dos Componentes Principais (ACP). O método organiza em uma matriz associativa as variâncias e covariâncias das variáveis. Quando as variáveis não são homogêneas, como foi o caso com os parâmetros acústicos utilizados, é realizado um dimensionamento prévio. Como resultado, são obtidos diferentes eixos (chamados de componentes principais) que explicam parte da variação dos dados. Quando representados graficamente, os pontos (indivíduos ou populações) são distribuídos pelos eixos que possuem maior importância e as variáveis (parâmetros acústicos) são representadas por vetores. Desta forma, a ACP sumariza as principais variações dentro do conjunto de dados e onde os indivíduos ou populações se distribuem dentro dessa variação. Analisando os *loadings* (contribuição relativa para a formação de cada componente) dos componentes principais podemos obter quais parâmetros apresentam maior variação e assim explicam a distribuição dos pontos.

A análise ocorreu tanto para os dados intrapopulacionais quanto para entre as populações. Na ACP intrapopulacional os parâmetros analisados foram: (1) duração do canto, (2) número de notas, (3) frequência dominante, (4) frequência fundamental, (5) número de notas por segundo, (6) duração do intervalo entre os cantos, (7) duração das notas, e a (8) duração dos intervalos entre as notas. O SNR não foi utilizado nessa análise por ser um parâmetro altamente dependente da distância entre o microfone do gravador e o animal, portanto, não sendo uma variável passível de ser comparada (KÖHLER et al., 2017). Para a ACP entre as populações os parâmetros limitaram-se aos disponibilizados pelos autores em levantamentos prévios, assim, foram utilizados: (1) duração do canto, (2) número de notas, (3) frequência dominante, (4) número de notas por segundo, (5) duração do intervalo entre cantos e a (6) duração das notas. A população de Iporanga-SP apresentou um valor mais extremo para o (5) intervalo entre cantos (s), mas não influenciou a ACP, pois o mesmo resultado foi obtido sem o parâmetro. Em todas as suas etapas a análise ocorreu por intermédio do programa de análise estatística R e representada graficamente com auxílio do pacote *ggplot2* (R-Development-Core-Team 2021; WICKHAM, 2011).

2.4 MAPAS E LEVANTAMENTO DE DADOS DAS POPULAÇÕES

As populações de *H. heyeri* já estudadas estão distribuídas em localizações geográficas distintas. As coordenadas dos locais de gravação foram cedidas juntamente com os arquivos para os indivíduos de Piraquara-PR (25°30'26.8"S, 48°59'26.7"O) e São José dos Pinhais-PR (25°30'26.8"S, 48°59'26.7"O). Para as populações cujos dados provêm da literatura, como Eldorado-SP (24°35'00"S, 48°35'00"O), Morretes-PR (25°26'59"S, 48°52'09"O) e Joinville-SC (26°17'45"S, 49°6'31"O) as coordenadas foram publicadas. Com relação à gravação de Iporanga, foram utilizadas as coordenadas do PETAR - Parque Estadual Turístico do Alto Ribeira (24° 33 '4.65"S, 48°40'39.03"O) pois é a única informação disponível referente ao local. Já para as populações de Guaratuba-PR (25°53'37.00"S, 48°36'44.00"O) e Garuva-SC (26° 1'21.00"S, 48°52'8.00"O) as coordenadas utilizadas foram retiradas dos centros urbanos das cidades. A temperatura média registrada durante a gravação dos cantos foi reunida da literatura publicada para as populações em que estavam disponíveis.

Para representar essa distribuição, foram confeccionados mapas com auxílio do programa QGIS (versão 3.20.1). As camadas utilizadas nos mapas que representam a variação climática e as formações vegetais entre as populações foram obtidas do IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE, 2021).

3. RESULTADOS

3.1 ANÁLISE INTRAPOPULACIONAL

3.1.1 ESTRUTURA DO CANTO DE ANÚNCIO E PARÂMETROS ACÚSTICOS

Os indivíduos da população de São José dos Pinhais-PR possuem cantos de anúncio muito similares em sua estrutura geral. O canto de anúncio apresentou uma estrutura harmônica, com energia concentrada no terceiro harmônico e com emissão de várias notas separadas por curtos intervalos de tempo. O oscilograma (parte inferior da Figura 1) demonstra claramente o incremento na amplitude das notas em relação ao tempo, o que sugere um aumento na energia nas notas finais do canto. O espectrograma (parte superior da Figura 1) revela a estrutura harmônica do canto, a energia concentrada principalmente no terceiro harmônico (considerada como a frequência dominante) e também demonstra a pouca modulação na frequência em relação ao tempo.

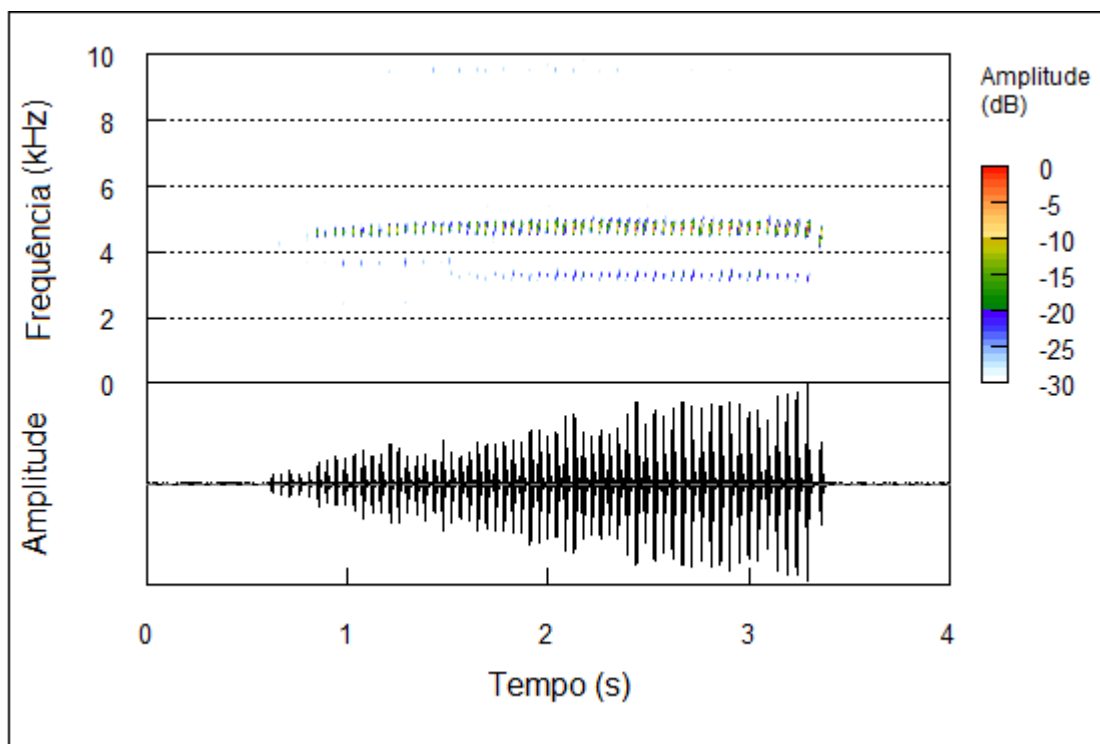


Figura 1 – Oscilo-espectrograma do canto de anúncio do Indivíduo 2 de *Hylodes heyeri* da população de São José dos Pinhais-PR. FFT = 512 e sobreposição de 90%.

Os diferentes harmônicos são mais destacados num gráfico de densidade espectral (frequência *versus* amplitude, Figura 2), em que é possível observar os três picos iniciais de energia que correspondem ao primeiro, segundo e terceiro harmônico. O primeiro harmônico é geralmente mascarado pelo ruído de fundo de rios e correntezas e isso dificulta sua visualização. O terceiro harmônico, por conter maior energia, prevalece quando a frequência dominante é mensurada.

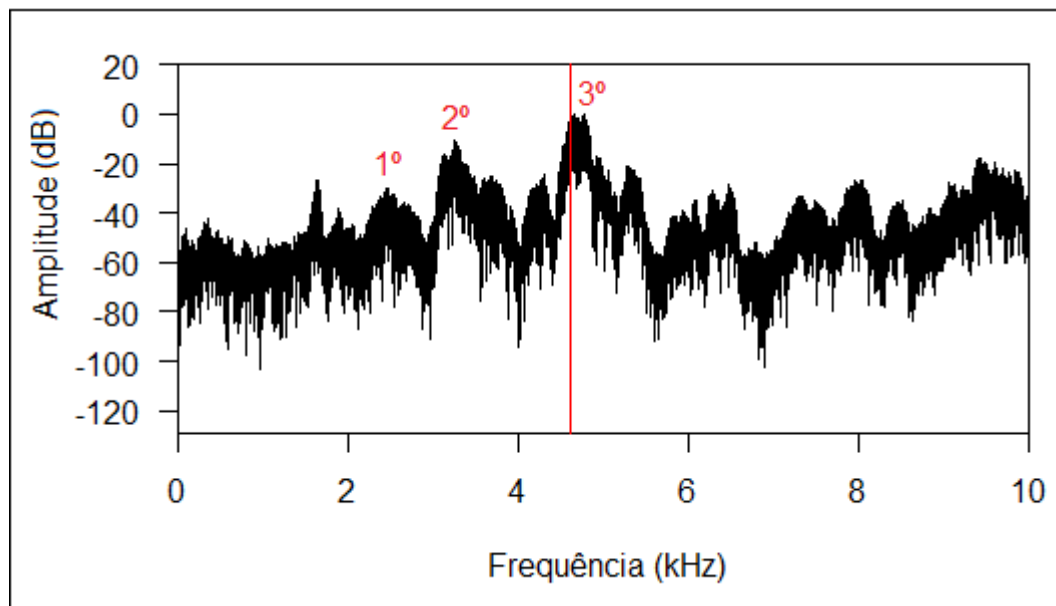


Figura 2 – Densidade espectral do canto de anúncio do Indivíduo 2 da população de São José dos Pinhais-PR. A linha vermelha mostra a Frequência Dominante (4,61) do canto; FFT = 512.

Em quatro indivíduos (identificados como 1º, 2º, 3º e 11º) a última nota do canto se destaca por possuir energia inferior às notas anteriores. Os primeiros cantos de cada indivíduo analisado podem ser comparados no Apêndice 1.

Para todos os cantos analisados a duração do canto teve média de $1,81 \pm 0,51$ s (1,10 - 3,10; n = 50), o número de notas teve média de $41,5 \pm 9,4$ (28 - 67; n = 50), a frequência dominante teve média de $4,40$ kHz $\pm 0,20$ (3,66 - 4,66; n = 50), a frequência fundamental teve média de $3,57$ kHz $\pm 0,35$ (2,19 - 4; n = 50), as notas por segundo teve média de $25,4 \pm 2,36$ (21,3 - 29,2; n = 50), o intervalo entre cantos teve média de $23,7$ s $\pm 9,69$ (12,9 - 51,2; n = 40), duração das notas com média de $0,018$ s $\pm 0,003$ (0,014 - 0,025; n = 39) e a duração dos intervalos entre as notas com média de $0,019$ s $\pm 0,003$ (0,014 - 0,025; n = 39).

A média dos indivíduos para os parâmetros estão reunidos na Tabela 2. A temperatura registrada durante as gravações dos indivíduos variou de 19,4 a 22,2 °C (n = 13). Dentre os indivíduos que tiveram seu CRC mensurado (n = 10) os valores ficaram entre 36,73 e 41,70 mm com a média de $38,37 \pm 1,27$. Finalmente, a umidade relativa registrada no momento do canto variou de 72 a 88 % (n = 13) e a altitude do local de gravação é de aproximadamente 933 m.

3.1.2 COEFICIENTE DE VARIAÇÃO E ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS

Entre os oito parâmetros cujos coeficientes de variação foram calculados, cinco foram classificados como dinâmicos ($CV \geq 10\%$) e um classificado como estático ($CV \leq 5\%$). Dois parâmetros tiveram coeficientes intermediários ($= 9\%$) e, portanto, sua classificação pode ser considerada intermediária. O parâmetro com maior coeficiente de variação foi a duração do intervalo entre os cantos ($CV = 30\%$) e o com menor valor foi a frequência dominante ($CV = 4\%$). A Tabela 3 sumariza os valores calculados.

Na Análise dos Componentes Principais (ACP) os dois primeiros componentes (PC1 e PC2) reuniram 68,65% da variação e da covariação dos dados. No PC1, o número de notas por segundo e a duração do intervalo são separadas das outras variáveis temporais e espectrais. Assim, esse eixo separa os indivíduos que têm maiores frequências e levam mais tempo cantando, com mais notas e maior intervalo entre notas, dos indivíduos que emitem mais notas por segundo com um intervalo maior entre cantos. Já o PC2 contrapõe parâmetros espectrais e temporais em maior grau e divide principalmente o número de notas por segundo e a duração do intervalo. A Figura 3 apresenta a distribuição dos indivíduos da população nos componentes principais 1 (PC1) e 2 (PC2), com os parâmetros sendo representados pelos vetores, que indicam a direção e a magnitude do efeito no espaço formado pelo PC1 e PC2. Os *loadings* dos parâmetros entre os dois componentes principais são apresentados na Tabela 4. Os parâmetros que mais contribuíram para a formação do PC1 foram a duração do canto e a duração das notas. Para o PC2 foram a frequência dominante e o intervalo entre os cantos.

Tabela 2 – Médias dos parâmetros acústicos da população de São José dos Pinhais-PR

Indivíduo	Duração do canto (s)	Notas	Frequência Dominante (kHz)	Frequência Fundamental (kHz)	Notas/s	Intervalo (s)	Duração das Notas (s)	Intervalo entre notas (s)	SNR	Temperatura (°C)	CRC (mm)	Umidade Relativa (%)
SJ1	2,29	53	4,17	3,47	23,10	32,87	0,018	0,018	3,95	20,1	41,70	78
SJ2	2,74	59	4,61	3,61	21,54	27,89	0,025	0,025	3,01	21,3	37,86	77
SJ3	1,53	36	4,35	3,80	23,18	36,36	0,025	0,025	3,17	21,3	-	77
SJ4	2,75	61	4,40	3,60	22,30	15,91	0,023	0,023	2,50	21,3	-	77
SJ5	1,46	41	4,50	3,81	28,01	31,97	0,014	0,014	3,52	21,8	38,53	81
SJ6	1,52	40	4,33	2,94	26,70	15,50	0,020	0,020	2,95	19,9	36,73	87
SJ7	1,90	49	4,51	3,61	25,70	16,57	0,018	0,018	2,84	21,9	38,94	85
SJ8	1,70	40	4,30	3,64	23,52	34,17	0,015	0,015	3,53	21,9	37,64	72
SJ9	1,39	40	4,53	3,40	28,53	23,29	0,017	0,017	3,16	22,2	38,47	81
SJ10	1,70	44	4,23	3,46	25,88	27,81	0,015	0,020	2,62	21,2	37,58	84
SJ11	1,22	34	3,87	2,76	27,72	30,00	0,014	0,020	3,35	19,9	38,22	78
SJ12	1,56	37	4,30	3,21	23,61	28,21	0,016	0,019	4,32	19,4	38,05	88
SJ13	1,65	45	4,40	3,56	27,27	16,23	0,017	0,017	2,90	21,2	-	84

Tabela 3 – Parâmetros e Coeficiente de Variação da população de *Hylodes heyeri* (N=13) de São José Dos Pinhais-PR

Parâmetro	Média	Desvio-padrão	Mínimo	Máximo	Classificação	CV	Tipo
Duração (s)	1,8	0,49	1,22	2,75	Temporal	27%	Dinâmico
Notas	44,58	8,64	34	61	Temporal	19%	Dinâmico
Frequência Dominante (kHz)	4,34	0,19	3,87	4,61	Espectral	4%	Estático
Frequência Fundamental (kHz)	3,45	0,31	2,76	3,81	Espectral	9%	Intermediário
Notas/s	25,16	2,38	21,54	28,53	Temporal	9%	Intermediário
Intervalo (s)	25,57	7,57	15,5	36,36	Temporal	30%	Dinâmico
Duração das Notas (s)	0,018	0,003	0,014	0,025	Temporal	17%	Dinâmico
Intervalo entre notas (s)	0,019	0,003	0,014	0,025	Temporal	16%	Dinâmico

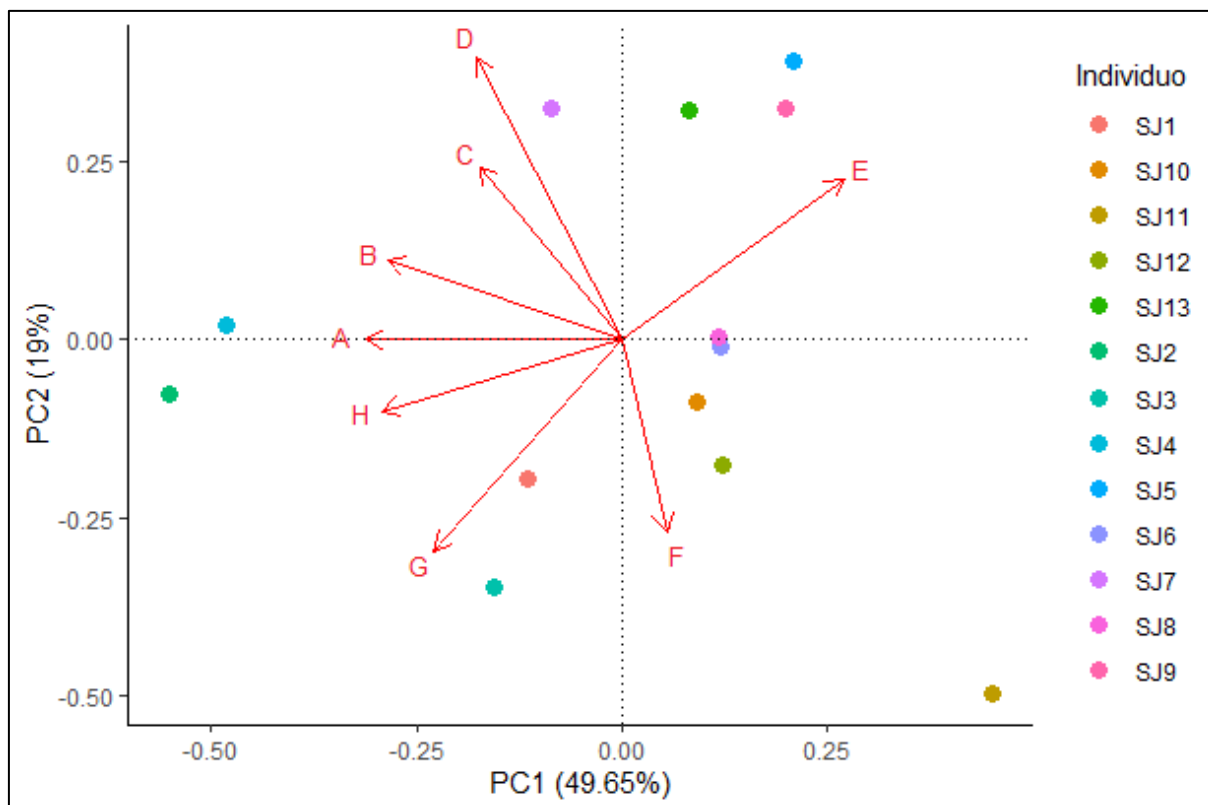


Figura 3 – Análise dos Componentes Principais dos parâmetros acústicos de *Hylodes heyeri* de São José Dos Pinhais. Legenda: A – Duração do canto (s); B – N° de Notas; C – Frequência Fundamental (kHz); D – Frequência Dominante (kHz); E – Notas por segundo; F – Intervalo entre cantos; G – Intervalo entre notas; H – Duração das notas (s).

Tabela 4 – *Loadings* dos Componentes Principais 1 e 2 da Análise dos Componentes Principais intrapopulacional

Parâmetro	PC1	PC2
Duração do Canto	-0,4618	0,0006
Duração das Notas	-0,4352	-0,1498
Notas	-0,4236	0,1648
Intervalo entre Notas	-0,3405	-0,4422
Frequência Fundamental	-0,2581	0,3618
Frequência Dominante	-0,2618	0,5910
Intervalo	0,1057	-0,6687
Notas/s	0,4000	0,3371

NOTA: Maiores valores de cada eixo destacados em negrito.

3.1.3 RELAÇÃO DOS PARÂMETROS ACÚSTICOS COM FATORES ABIÓTICOS E O TAMANHO DO CORPO

Apenas a frequência dominante ($r^2 = 0,34$; $F_{1,11} = 7,3$; $p < 0,05$) e a frequência fundamental ($r^2 = 0,47$; $F_{1,11} = 12,0$; $p < 0,01$) foram relacionadas com a temperatura.

Os parâmetros acústicos analisados não tiveram relação com o tamanho do corpo (Comprimento Rostro-Cloacal) e a umidade relativa ($p > 0,05$).

3.2 ANÁLISE ENTRE POPULAÇÕES

3.2.1 ESTRUTURA DO CANTO DE ANÚNCIO E PARÂMETROS ACÚSTICOS

Na comparação entre as populações de *Hylodes heyeri*, a estrutura geral do canto de anúncio se manteve muito similar. Comparando os oscilogramas e espectrogramas (Figura 1; Figura 4; Figura 5; Figura 6; Figura 7) é possível notar a fidelidade da estrutura do canto tanto em aspectos temporais quanto espectrais. Os cantos de anúncio possuem a mesma estrutura harmônica, com energia concentrada no terceiro harmônico, pouca modulação da frequência, emissão de várias notas separadas por curtos intervalos de tempo e aumento da energia nas notas finais do canto.

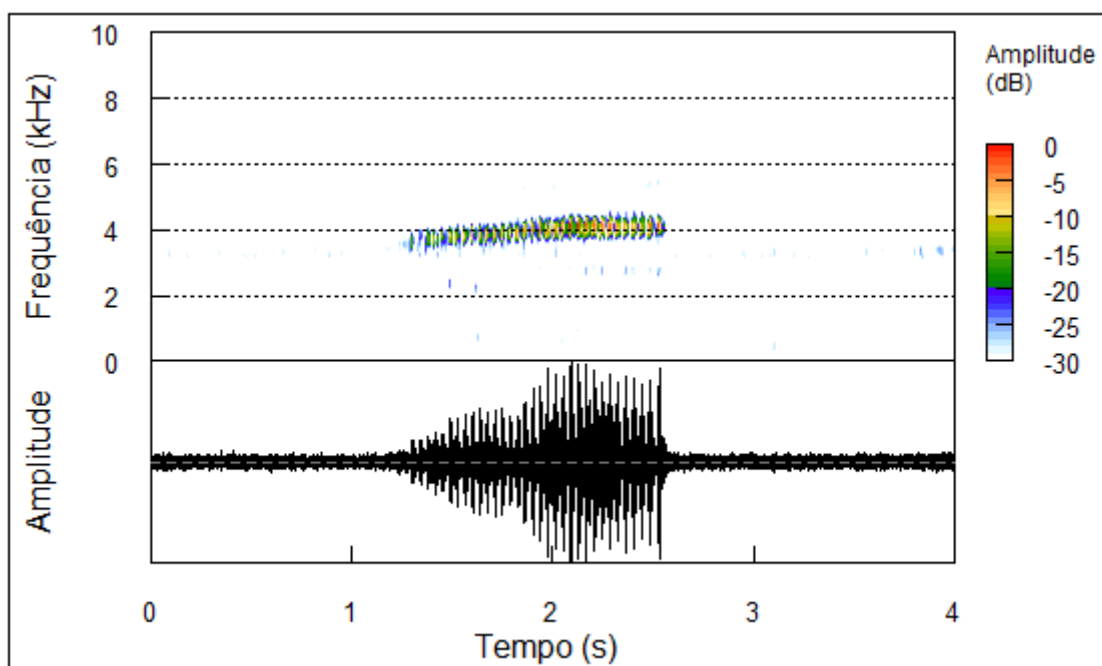


Figura 4 – Oscilo-espectrograma do canto de anúncio do indivíduo de *Hylodes heyeri* da população de Iporanga-SP (IP). FFT = 512 e sobreposição de 90%.

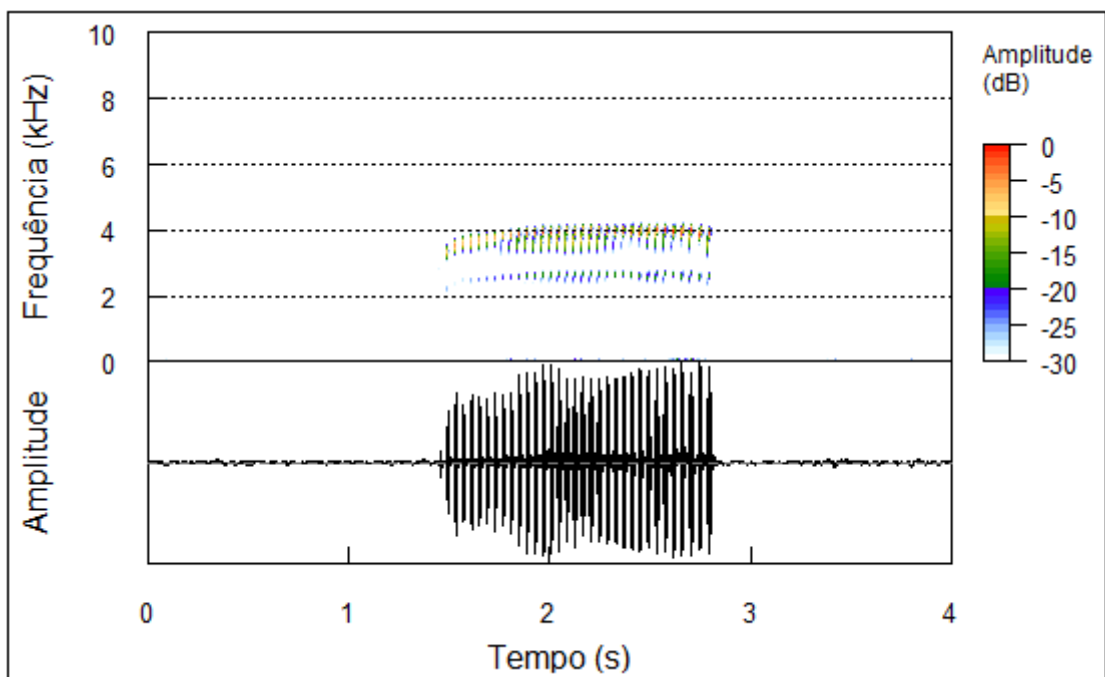


Figura 5 – Oscilo-espectrograma do canto de anúncio de um indivíduo de *Hylodes heyeri* da população de Piraquara-PR (PI). FFT = 512 e sobreposição de 90%.

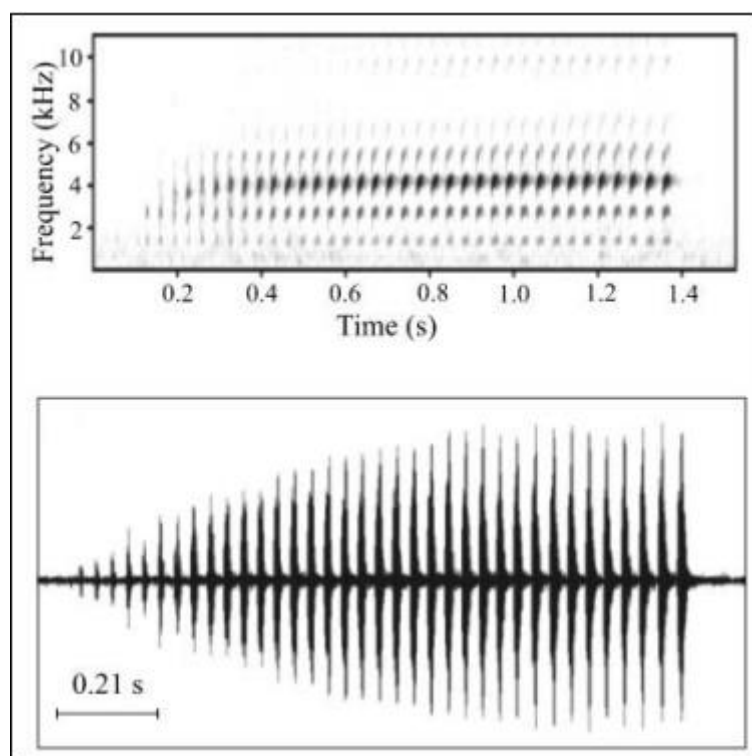


Figura 6 – Espectrograma (acima) e Oscilograma (abaixo) do canto de anúncio de *Hylodes Heyeri* da população de Morretes-PR (MO). Adaptado de LIGNAU; BASTOS (2007).

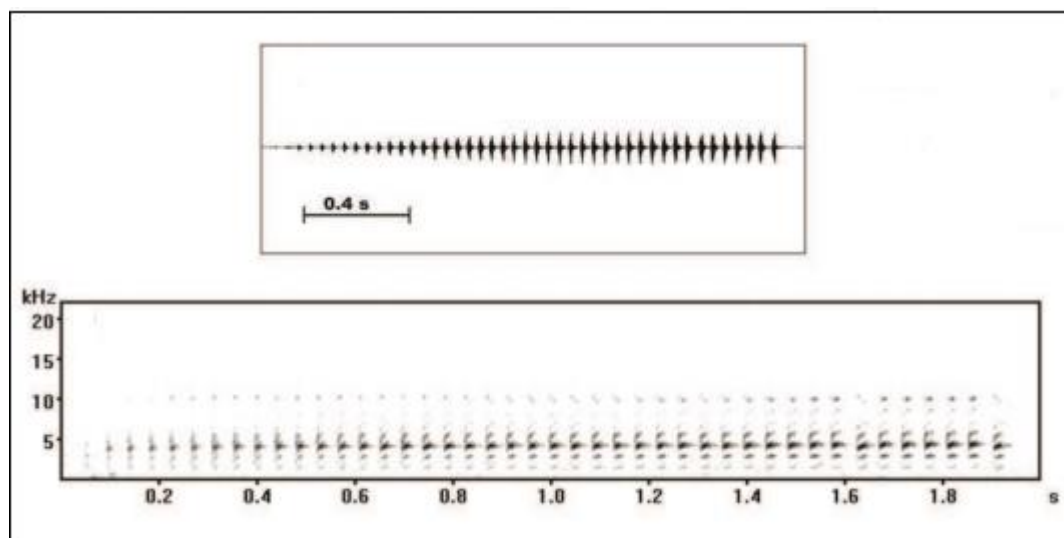


Figura 7 – Oscilograma (acima) e Espectrograma (abaixo) do canto de anúncio de *Hylodes Heyeri* da população 1 de Joinville-SC (JO1). Adaptado de MONTEIRO et al. (2014).

Os parâmetros acústicos levantados da literatura para a população de Eldorado-SP (EL) foram: média da duração do canto de $1,05 \text{ s} \pm 0,24$ (0,72 - 1,53; $n = 32$), média do número de notas de $27,63 \pm 4,76$ (21 - 37; $n = 32$), média das notas por segundo de $26,72 \pm 2,36$ (23,4 - 29,9; $n = 32$), média estimada da duração das notas de 0,03 s (0,03 - 0,04), média estimada da frequência dominante de 4,00 kHz (3,7 - 4,3) e média do intervalo de cantos de $15,52 \text{ s} \pm 7,63$ (8,98 - 38,75; $n = 75$). A temperatura média estimada foi de 22 °C, variando de 21 a 23 °C, o CRC médio para os machos foi de $39,3 \text{ mm} \pm 2,1$ (36,4 - 42,6; $n = 13$) e a altitude de 450 m.

Para a população de Morretes-PR (MO) os dados levantados da literatura foram: média da duração do canto de $1,11 \text{ s} \pm 0,25$ (0,69 - 1,86; $n = 85$), média do número de notas de $32,58 \pm 5,87$ (20 - 48; $n = 85$), média estimada das notas por segundo de 29,35 ($n = 85$), média da duração das notas de $0,03 \text{ s} \pm 0,002$ (0,02 - 0,04; $n = 85$), média da frequência dominante de $4,22 \text{ kHz} \pm 0,21$ (3,90 - 4,61; $n = 85$) e média do intervalo de cantos de $13,97 \text{ s} \pm 7,45$ (8,98 - 38,75; $n = 75$). A temperatura média estimada foi de 22,6, variando entre 20 e 25,2 °C, o CRC médio dos machos foi de $36 \text{ mm} \pm 0,9$ (33,9 - 37,9; $n = 17$) e 150 m acima do nível do mar.

Na população de Joinville-SC (JO1) foram levantados da literatura os parâmetros acústicos foram: média da duração do canto de $2,03 \text{ s} \pm 0,34$ (1,12 - 2,49; $n = 15$), média do número de notas de $44,93 \pm 7,77$ (26 - 56; $n = 15$), notas por segundo com média estimada de 22,13 ($n = 15$), a média da duração das notas de $0,02 \text{ s} \pm 0,004$ (0,014 - 0,034), média do intervalo entre notas de $0,02 \text{ s} \pm 0,003$

(0,018 - 0,031; n = 15), média da frequência dominante de 4,39 kHz \pm 0,36 (3,89 - 4,89; n = 15) e média do intervalo entre cantos de 27,72 s \pm 10,17 (15,69 - 54,61). A temperatura média foi de 19 °C, o CRC médio de 35,72 \pm 0,58 (35.06 - 36.28; n = 3) e a altitude de 712 m.

A população de Iporanga-SP (IP) teve seus parâmetros extraídos de gravações, os quais foram: média da duração do canto de 1,44 s \pm 0,09 (1,35 - 1,55; n = 4), média do número de notas de 36,00 \pm 3,10 (33 - 40; n = 4), média das notas por segundo de 24,96 \pm 0,85 (24,4 - 25,8; n = 4) a média da duração das notas de 0,01 s \pm 0,001 (0,01 - 0,02; n = 4), média do intervalo entre notas de 0,01 s \pm 0,001 (0,01 - 0,02; n = 4), média da frequência dominante de 3,82 kHz \pm 0,08 (3,70 - 3,88; n = 4) e média do intervalo entre cantos de 28,12 s \pm 12,06 (19,6 - 100,7; n = 3).

A população de Piraquara-PR (PI) teve seus parâmetros extraídos de gravações, os quais foram: média da duração do canto de 1,30 s \pm 0,11 (1,14 - 1,37; n = 4), média do número de notas de 32,00 \pm 2,87 (28 - 34; n = 4), média das notas por segundo de 24,77 \pm 0,18 (24,56 - 25,0; n = 4), média da duração das notas de 0,01 s \pm 0,001 (0,01 - 0,02; n = 4), média do intervalo entre notas de 0,01 s \pm 0,001 (0,01 - 0,02; n = 4), média da frequência dominante de 3,75 kHz \pm 0,03 (3,72 - 3,80; n = 4) e média do intervalo entre cantos de 21,0 s \pm 2,56 (18,5 - 23,4; n = 3). A temperatura registrada foi de 22,8 °C, CRC de 40,7 (n = 1) e altitude de 1000 m.

Na segunda população de Joinville-SC (JO2) foram levantados da literatura os parâmetros acústicos com: duração do canto com média de 1,95 s \pm 0,31 (1,14 - 2,57; n = 3), número de notas com média de 51,6 \pm 7,3 (33 - 64; n = 3), notas por segundo com média de 26,70 \pm 3,2 (21,5 - 33,6; n = 3), a duração das notas com média de 0,021 s \pm 0,005 (0,003 - 0,038; n = 3), intervalo entre notas com média de 0,023 s \pm 0,005 (0,009 - 0,043; n = 3), frequência dominante com média de 4,54 kHz \pm 0,31 (3,96 - 4,99; n = 3) e média do intervalo entre notas de 25,85 s \pm 10,32 (14,8 - 54,9). A temperatura média foi de 18 °C, variando entre 17,2 e 19 °C, o CRC dos indivíduos e a altitude não foram informados.

A população de Guaratuba-PR (GU) teve seus parâmetros levantados da literatura, os quais foram: duração do canto com média de 1,33 s \pm 0,08 (1,21 - 1,43), número de notas com média de 41 \pm 2,3 (38 - 44), notas por segundo com média de 30,81 \pm 0,20 (30,65 - 31,1) a duração das notas com média de 0,017 s \pm 0,005 (0,004 - 0,03), intervalo entre notas com média de 0,014 s \pm 0,003 (0,004 -

0,03), frequência dominante com média de $4,12 \text{ kHz} \pm 0,84$ (4,08 - 4,22) e intervalo entre notas com média de $14,73 \text{ s} \pm 9,43$ (4,8 - 25,9).

Para a população de Garuva-SC (GA) os dados levantados da literatura foram: duração do canto com média de $1,46 \text{ s} \pm 0,10$ (1,19 - 1,61), número de notas com média de $39,4 \pm 2,81$ (32 - 43), notas por segundo com média de $26,82 \pm 0,18$ (26,5 - 27,1), a duração das notas com média de $0,014 \text{ s} \pm 0,003$ (0,003 - 0,029), frequência dominante com média de $4,28 \text{ kHz} \pm 0,72$ (4,12 - 4,31) e intervalo entre cantos com média de $14,78 \text{ s} \pm 2,51$ (11,3 - 20,8). A temperatura média foi de 19°C .

A comparação dos parâmetros acústicos para as diferentes populações é ilustrada na Figura 8 e as variáveis independentes são ilustradas na Figura 9.

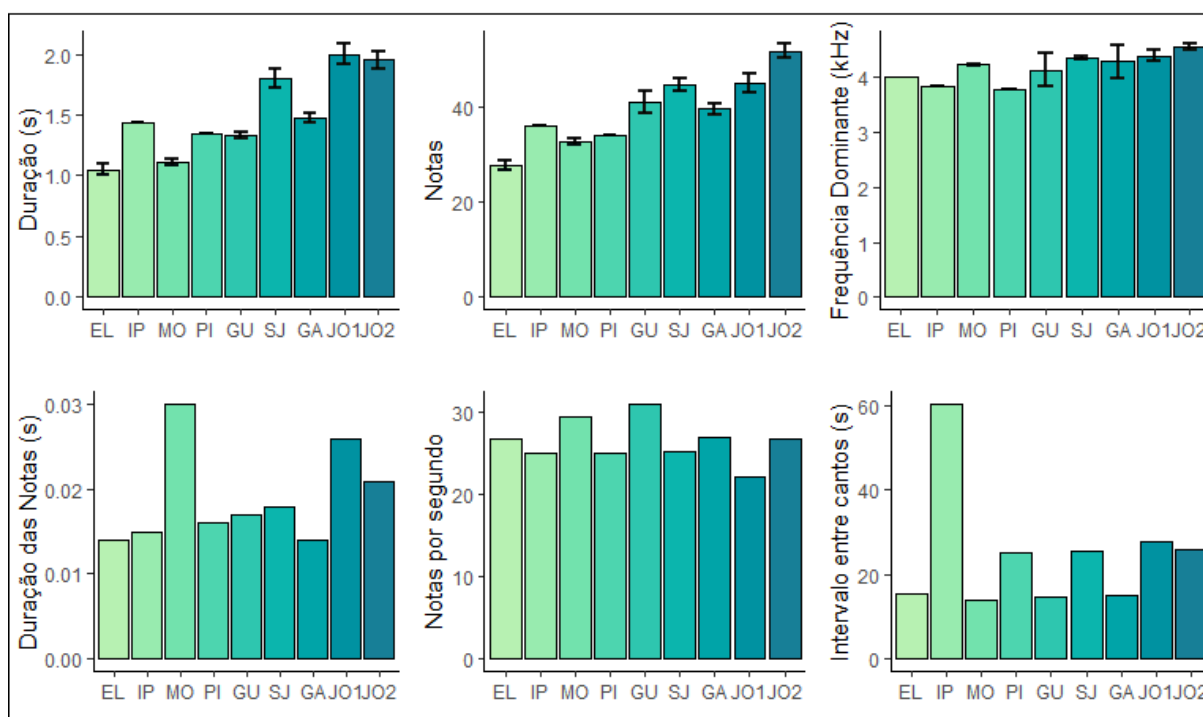


Figura 8 – Média dos parâmetros acústicos das populações de *Hylodes heyeri*. As colunas representam as médias e as barras representam os erros-padrão.

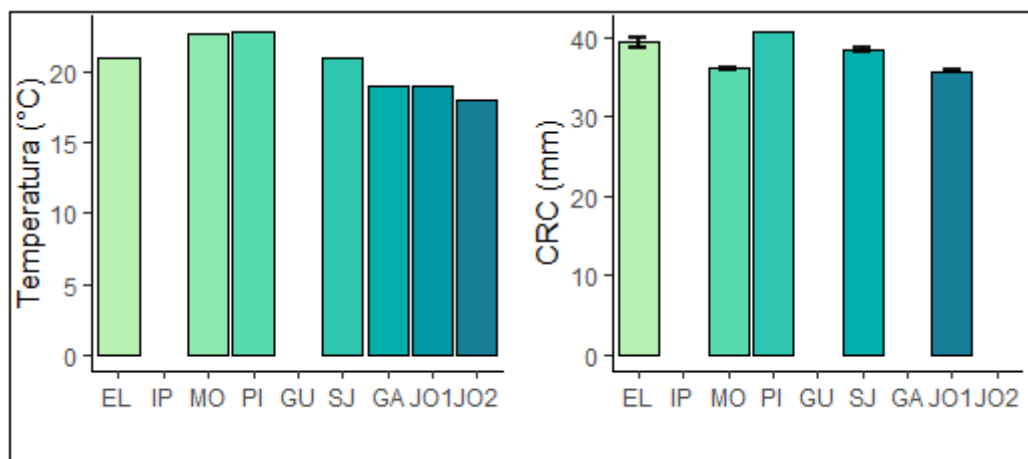


Figura 9 – Médias da temperatura e do Comprimento Rostro-Cloacal das populações de *Hylodes heyeri*. As colunas representam as médias e as barras representam os erros-padrão.

3.2.2 DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA E FATORES AMBIENTAIS DAS POPULAÇÕES

As populações de *Hylodes heyeri* com cantos de anúncio levantados estão distribuídas desde a bacia do Alto Ribeira em São Paulo até a Serra Catarinense no interior de Joinville (Figura 11). A distância da população mais ao norte (Iporanga-SP) para a população mais ao sul (Joinville-SC) é de aproximadamente 198 km. Todas as populações estão inseridas em uma faixa de clima temperado, variando de Subquente para as populações EL, IP e GU à Mesotérmico brando para MO, PI e JO1 e JO2 (Figura 12) (IBGE, 2021). A população SJ localiza-se em uma zona temperada mediana, com média de temperatura menor na estação mais seca, provavelmente devido a altitude relativamente alta da região (933 m). Com relação à vegetação, a formação é a Floresta Ombrófila Densa (Figura 13), sendo que a população PI se localiza em um ecótono dessa formação com a Floresta Ombrófila Mista (Floresta de Araucárias). A área para a população SJ é um ecótono entre a Floresta Ombrófila Densa Montana e a Floresta Ombrófila Mista.

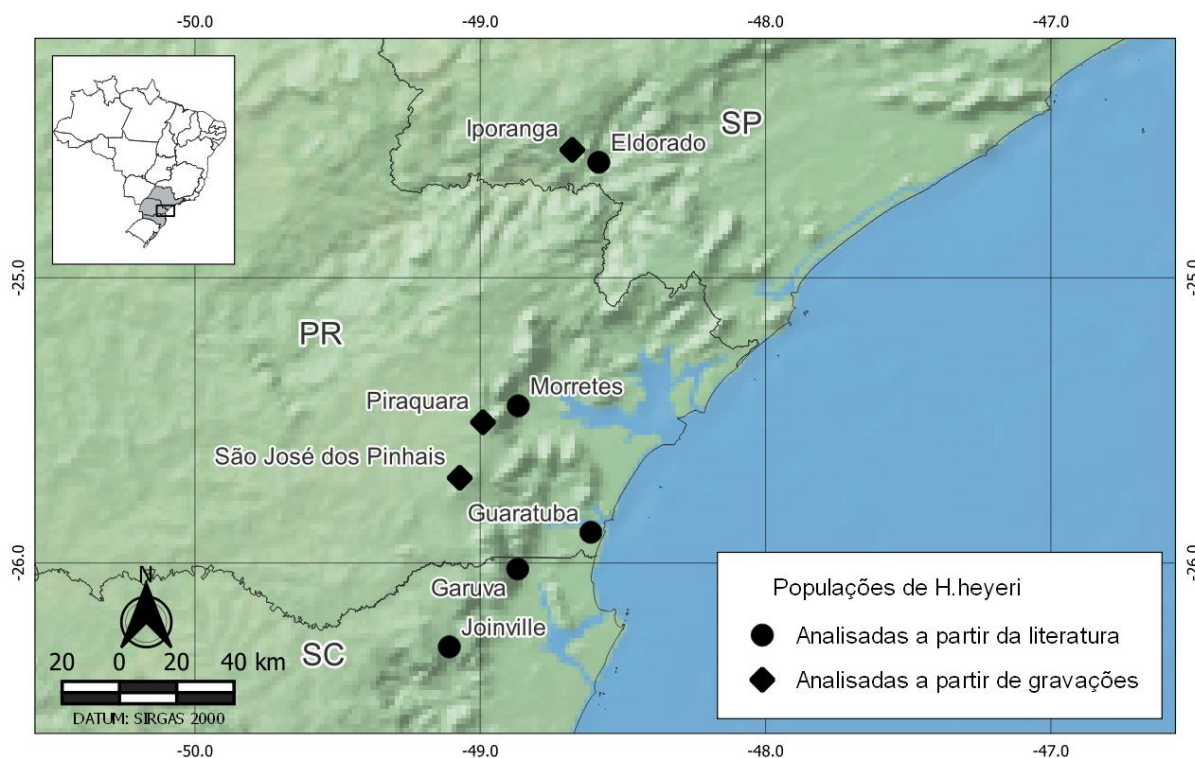


Figura 10 – Distribuição geográfica das populações de *Hylodes heyeri* analisadas

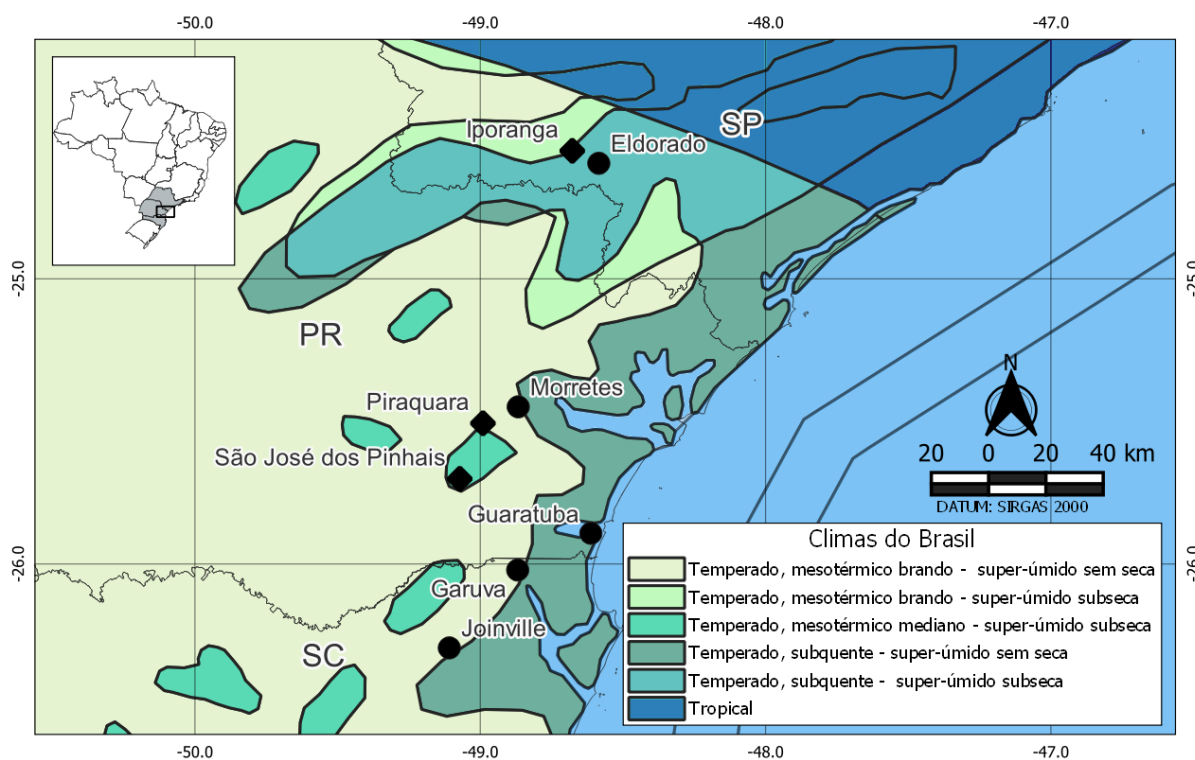


Figura 11 – Faixas climáticas em que estão inseridas as populações analisadas

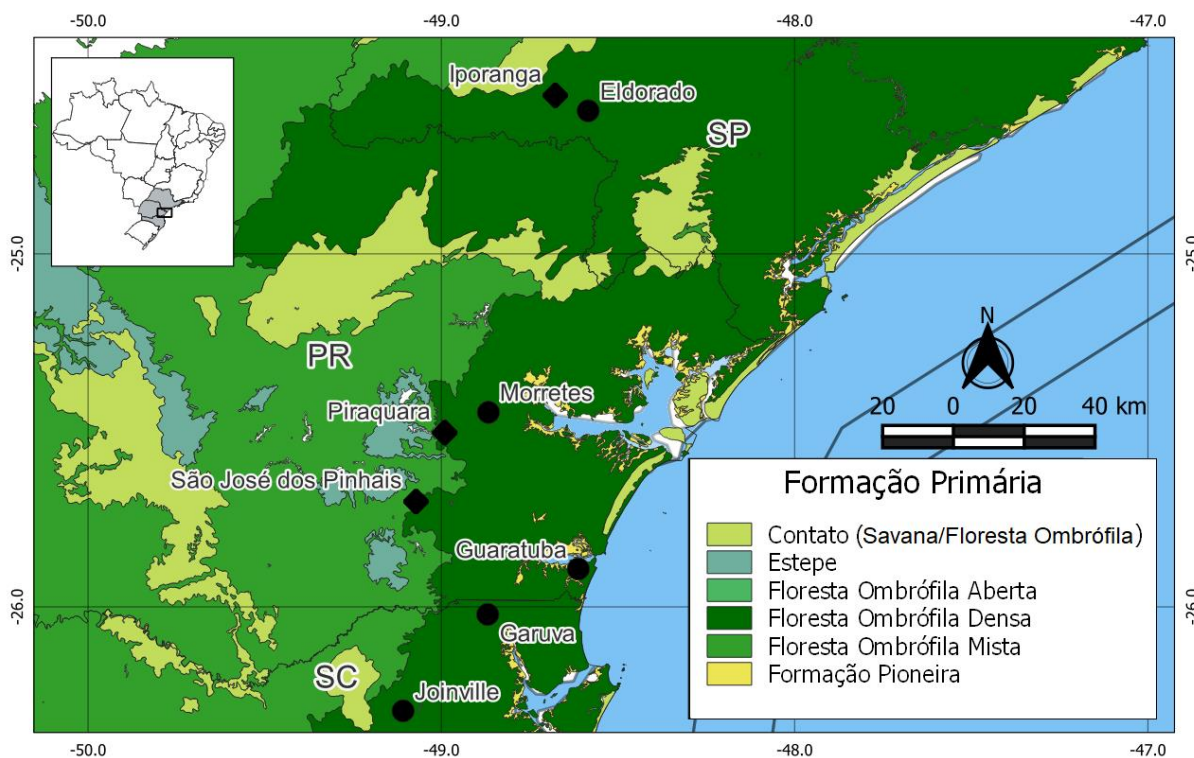


Figura 12 – Formações vegetais em que estão inseridas as populações analisadas

3.2.3 ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS E CORRELAÇÃO COM FATORES FÍSICOS E GEOGRÁFICOS

A temperatura ($^{\circ}\text{C}$) teve uma relação positiva significativa com a frequência dominante dos cantos ($r^2 = 0,59$; $F_{1,5} = 7,4$; $p < 0,05$). Com a Latitude (Graus Decimais) houve relação significativa com duração do canto ($r^2 = 0,46$; $F_{1,5} = 6,1$; $p < 0,05$), com o número de notas ($r^2 = 0,63$; $F_{1,5} = 12,0$; $p < 0,05$) e com a frequência dominante ($r^2 = 0,56$; $F_{1,5} = 9,1$; $p < 0,05$). A Longitude (Grau Decimais) por sua vez mostrou relação positiva significativa com a duração do canto ($r^2 = 0,66$; $F_{1,5} = 11,7$; $p < 0,05$) e com o intervalo entre cantos ($r^2 = 0,70$; $F_{1,5} = 14,2$; $p < 0,01$).

Na Análise dos Componentes Principais (ACP) das populações, os dois primeiros componentes (PC1 e PC2) reuniram 76,87% da variação e da covariação dos dados (Figura 9). Aqui o PC1 é um contraste entre populações com cantos de maior duração e de maior número de notas no quadrante positivo, com influência ligeiramente menor da frequência dominante e cantos de maior número de notas por segundo. Já o PC 2 contrasta populações com cantos que possuem mais notas por segundo, notas de maior duração e frequência dominante superior no quadrante positivo das populações com intervalos de maior duração entre cantos no quadrante

negativo. Os *loadings* dos parâmetros entre os dois componentes principais são apresentados na Tabela 6. Os parâmetros mais contribuíram para a formação do PC1 foram a duração do canto e o número de notas. Para o PC2, foram o intervalo entre os cantos e notas por segundo.

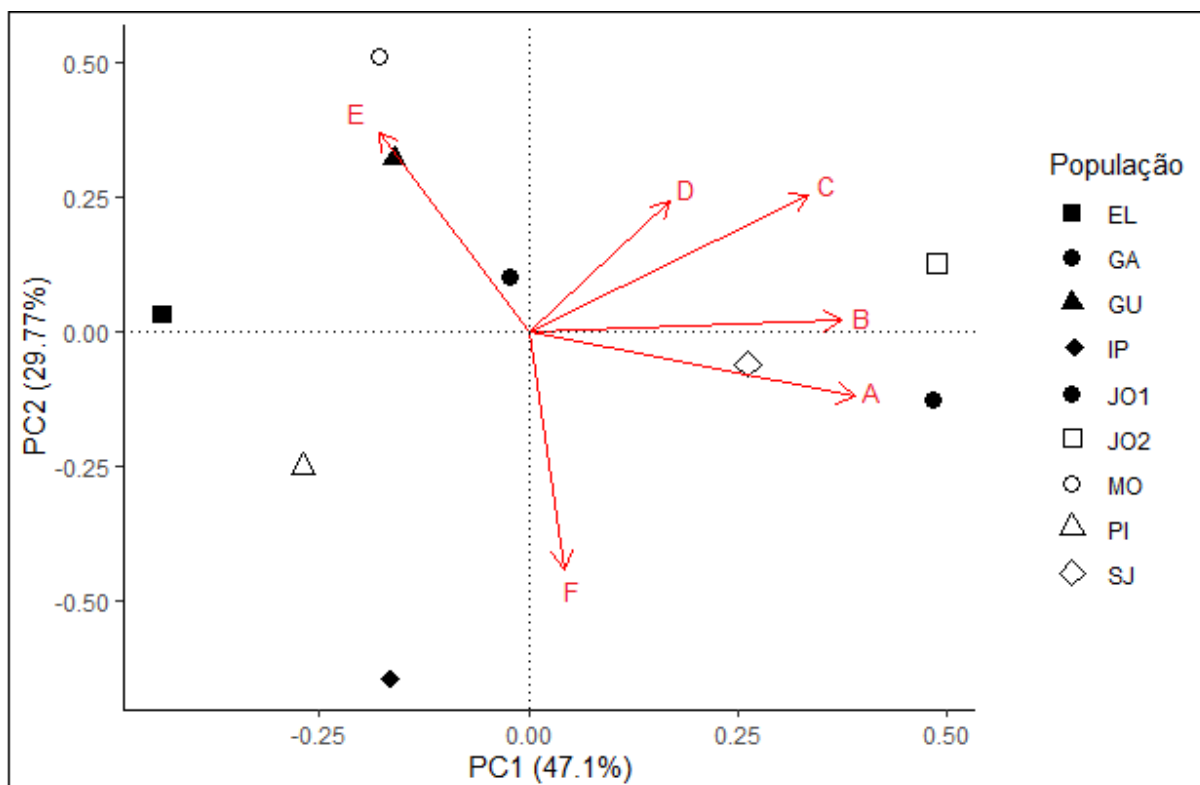


Figura 13 – Análise dos Componentes Principais dos parâmetros acústicos entre populações de *Hylodes heyeri*. Legenda: A – Duração do canto (s); B – N° de notas; C – Frequência Dominante (kHz); D – Duração das notas (s); E – Notas por segundo; F – Intervalo entre cantos (s).

Tabela 5 – *Loadings* dos Componentes Principais 1 e 2 da Análise Dos Componentes Principais das Populações

Parâmetro	PC1	PC2
Duração do Canto	0,5714	0,1778
Duração das Notas	0,2467	0,3525
Notas	0,5482	0,0282
Frequência Dominante	0,4893	0,3691
Intervalo entre Cantos	0,0626	-0,6460
Notas/S	-0,2619	0,5381

NOTA: maiores valores de cada eixo destacados em negrito.

4. DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISE INTRAPOPOPULACIONAL

A estrutura do canto de anúncio dos machos se manteve constante dentro da população SJ. Dentro de determinado espaço, diferentes espécies de anuros podem estar vocalizando ao mesmo tempo (CUNHA et al., 2010; DUELLMAN; PYLES, 1983; WELLS, 2010) e por isso é vital que as fêmeas reconheçam os cantos de coespecíficos (GERHARDT, 1994; VENCES; WAKE, 2007). Outras espécies de rãs também restritas a riachos já foram avistadas vocalizando próximas a *Hylodes heyeri*, como *Crossodactylus caramaschii* Bastos e Pombal, 1995 (Anura, Hylodidae) *H. perplicatus* e *H. cardosoi* (HADDAD, et al. 2003; LIGNAU et al. 2008; STRUETT, 2018). Assim, é esperado que as variações nos cantos de anúncio em anuros de uma mesma espécie estejam restritas a diferenças quantitativas sutis, como na duração e no número de notas, enquanto a sua estrutura se mantém constante (GERHARDT, 1991; KÖHLER et al., 2017). Algumas características do canto são conservadas dentro do gênero *Hylodes*, como notas curtas e numerosas com estruturas harmônicas e rápido crescimento e decaimento; energia concentrada no terceiro harmônico; cantos espaçados ritmicamente dentro das sequências que são separadas por longos períodos de silêncio, e são consideradas propriedades qualitativas (HADDAD; GIARETTA, 1999; VIELLIARD; CARDOSO, 1996). Outra característica do gênero são os cantos com alta frequência, que é considerada uma adaptação para ocupar ambientes sob ruídos constantes (com frequências de até 1,5 kHz) como riachos e quedas d'água (HÖEDL: AMEZQUITA, 2001)

Alguns fatores abióticos, como a temperatura e a umidade relativa podem influenciar as propriedades do canto de anúncio. Por serem ectotérmicos, as atividades metabólicas e musculares dos anuros estão associadas com a temperatura do ambiente, e umidades altas são necessárias para manter a homeostase, diminuindo a perda de água e facilitando as trocas gasosas que ocorrem na pele (POUGH et al., 2008; ROLLINS-SMITH, 2017; WELLS, 2010). Estudos com populações de *H. heyeri* obtiveram maiores taxas de captura entre os meses mais quentes do ano (Novembro a Março), mas não encontraram relação com a umidade relativa do ar (STRUETT, 2018). BELTRAMIN (2014) relatou que as taxas de captura de *H. heyeri* em São José dos Pinhais tiveram uma relação positiva com a temperatura do ar, o que indica que a espécie se torna mais ativa conforme a

temperatura aumenta. No entanto, HATANO e colaboradores (2002) observaram um efeito negativo da temperatura no número de machos da espécie *H. phylodes* vocalizando por hora.

Quando apresenta baixa amplitude, a temperatura não tem influência nas propriedades quantitativas dos cantos de anúncio. A relação entre parâmetros temporais do canto, como sua duração e o número de notas, com a temperatura é considerada comum em anuros e fortemente embasada na literatura (BEE et al., 2013; GERHARDT, 1994a; WELLS, 2007). KÖHLER e colaboradores (2017) examinaram artigos sobre variação acústica dependente da temperatura em anuros e concluíram que a temperatura exerce um efeito negativo na duração do canto, positivo no número de notas por segundo e irrelevante nas frequências. Outro exemplo, LINGNAU e colaboradores. (2007) encontraram uma relação negativa entre a temperatura e a duração do canto de anúncio (s) em machos de *H. heyeri* em Morretes. Essa relação foi atribuída ao custo metabólico da vocalização de forma que os machos reduziram a duração do canto para evitar um gasto excessivo de energia (LINGNAU et al., 2007). Nos indivíduos de *H. heyeri* de São José dos Pinhais, não foi encontrada nenhuma relação entre a temperatura e os parâmetros temporais, incluindo a duração do canto e o número de notas por segundo (Tabela 3). Deve-se atentar ao fato de que a temperatura teve baixa amplitude durante a captura das gravações da população de SJ (2,8 °C) em comparação com a amplitude observada por LINGNAU et al. (2007) (5,2 °C). Ao contrário, do que ocorre em outros anuros, a relação entre temperatura e os parâmetros acústicos dentro do gênero *Hylodes* é pouco compreendida, mas é muito provável que, nos indivíduos de São José dos Pinhais, uma correlação entre a duração do canto e o número de notas com a temperatura não tenha sido encontrada devido a sua baixa amplitude.

Outro fator abiótico, a umidade, não tem influência nos valores dos parâmetros acústicos da população, o que pode ser atribuído ao fato da espécie ser reofílica. Os resultados obtidos nos testes de regressão não encontraram uma relação significativa ($p > 0,05$) entre a umidade relativa do ar e os parâmetros acústicos (Tabela 3). O gênero *Hylodes* está associado a córregos e rios, onde há um constante respingo de gotículas de água que mantém alta a umidade do corpo desses animais e, desta forma, diferente de anuros que habitam outros ambientes, sua atividade não depende da umidade relativa do ar (HADDAD; GIARETTA, 1999; VIELLIARD; CARDOSO, 1996). Isso permite que as espécies do gênero tenham

atividade diurna, que são períodos com menor umidade relativa (LINGNAU et al. 2007; HATANO et al., 2002).

O tamanho do corpo (Comprimento Rostro-Cloacal) não influenciou os parâmetros espectrais, o que também pode ser explicado por sua baixa variabilidade entre os indivíduos da população de São José dos Pinhais. Em anuros, os parâmetros espectrais como a frequência dominante estão intimamente ligados ao tamanho do corpo do indivíduo, devido a sua relação com a tensão das cordas vocais (KÖHLER, 2017; WELLS, 2010). Os resultados obtidos revelam que a frequência dominante e a frequência fundamental não foram influenciadas pelo tamanho do corpo, mensurado pelo Comprimento Rostro-Cloacal ($p > 0,05$). Tanto o tamanho do corpo (CRC médio = $38.37 \pm 1,27$; $n = 10$) quanto a frequência dominante ($4,40 \text{ kHz} \pm 0,20$; $n = 50$) possuem baixa variabilidade dentro da população. Assim, não se descarta prontamente a possibilidade de existir essa relação para a espécie em populações com maior variação do tamanho ou com tamanho amostral maior do que o utilizado aqui. No entanto, esses parâmetros tiveram uma relação positiva com a temperatura ($r^2 = 0,34$; $p < 0,05$). Ao mesmo tempo, a temperatura não possui papel na modulação dos parâmetros espectrais (GERHARDT, 1994a; ZIEGLER et al., 2015) assim pode-se imputar a correlação positiva encontrada nos resultados como um fator aleatório ou uma relação indireta quando influencia os parâmetros temporais.

Os valores obtidos nos coeficientes de variação dos parâmetros acústicos nos permitem hipotetizar que os caracteres acústicos que podem estar sob efeito da seleção sexual na espécie. GERHARDT (1991) propôs uma classificação de parâmetros acústicos em dinâmicos e estáticos. Os parâmetros dinâmicos apresentam um maior coeficiente de variação ($CV > 10\%$) e com menor coeficiente ($CV < 5\%$) são os estáticos. Segundo a hipótese, parâmetros estáticos estão sob efeito da seleção estabilizadora ou de uma seleção direcional fraca, pois as fêmeas têm preferência por valores próximos da média, enquanto parâmetros dinâmicos estariam associados a seleção direcional, com as fêmeas preferindo valores mais extremos (GERHARDT, 1991; REINHOLD, 2011). Os resultados conferem à duração do canto e duração do intervalo entre notas os maiores valores de CV (Tabela 3) e seriam considerados dinâmicos, enquanto apenas a frequência dominante pode ser classificada como estática. Porém, as espécies do gênero *Hylodes* apresentam comunicação multimodal, visual-táctil, e um ritual de corte mais

complexo, com machos sendo muitas vezes escolhidos pelas fêmeas não só pelo canto de anúncio, mas pelo ninho feito (toca subaquática), o que não é observado para a maioria dos anuros (DE SÁ, 2013; DE SÁ et al., 2016). Ainda assim, a primeira etapa dessa escolha do macho ainda deve ocorrer por meio da seleção sexual da fêmea com base nos cantos de anúncio. Embora a classificação das propriedades acústicas em dinâmicas e estáticas nos forneça pistas de como ocorre o processo de seleção sexual na espécie, para resultados mais robustos é necessário a realização de experimentos de *fonotaxia* com as fêmeas de *Hylodes heyeri*.

A Análise dos Componentes Principais (ACP) nos possibilitou visualizar não apenas como estão distribuídas as variações dos cantos e das propriedades acústicas, mas também as diferentes estratégias de vocalização. Observa-se uma troca entre um dos parâmetros em detrimento de outro (*trade-off*): indivíduos com maior número de notas por segundo têm cantos com menor duração e indivíduos com maior duração dos cantos possuem um número inferior de notas por segundo. Observações com anuros demonstram que esses parâmetros podem variar dependendo da motivação do indivíduo, geralmente ligado a presença de uma fêmea ou outro macho competidor próximo ao macho vocalizando (HADDAD; CARDOSO, 1992; TOLEDO et al., 2015; WELLS, 2010). Isso pode ser atribuído ao maior custo energético de vocalizações com um maior número de notas por segundo e menor intervalo entre os cantos (PRESTWICH, 1994) e assim os machos geralmente não o fazem sem a presença de um estímulo. A ACP contrapõe as duas estratégias de forma clara no primeiro componente, no eixo positivo estão os indivíduos que investiram num maior número de notas por segundo (ao custo de uma menor duração do canto) e no eixo negativo estão os indivíduos que investiram numa maior duração (com o custo de um menor número de notas em seus cantos). Possivelmente essas estratégias distinguem os indivíduos ao ponto de possuírem diferentes valores adaptativos, pois uma das estratégias pode ser preferida pela fêmea. Nesse caso, experimentos direcionados a preferência da fêmea também poderiam ajudar a entender essa distinção aqui encontrada.

4.2 VARIAÇÃO ENTRE POPULAÇÕES

As populações de *Hylodes heyeri* não diferem na estrutura de seu canto de anúncio, mas sim em algumas propriedades acústicas. Conforme mencionado, a estrutura geral do canto de anúncio é essencial para o reconhecimento de coespecíficos e por isso em nível de indivíduos apresenta pouca variação, o mesmo vale para populações (FORTI et al., 2015; LITTLEJOHN, 1965). Características do canto de anúncio que são essenciais para o reconhecimento possuem menor diferença entre os indivíduos e populações, pois estão sob maior pressão seletiva (GERHARDT, 1991). Os resultados mostram que parâmetros como a duração do canto variam de acordo com a latitude e a longitude das populações. Especificamente, os resultados indicam que populações em maiores latitudes (mais ao sul) e em maiores longitudes (mais ao leste) possuem maior duração do canto. Indivíduos mais ao norte (no Estado de São Paulo) estão numa Zona Temperada Subquente e mais próximos da Zona Tropical (FIGURA 11) (IBGE, 2021) e assim estão sob temperaturas médias maiores ao longo do ano. Isso reforça a hipótese de que a duração do canto em *Hylodes* é dependente da temperatura (LINGNAU et al., 2007; HATANO et al., 2002) e cabe a estudos subsequentes analisar se essa dependência corresponde a uma adaptação ao clima local.

A projeção dos indivíduos de cada população no espaço dos dois primeiros componentes sugere que as populações mais próximas são mais similares. A distribuição dos indivíduos entre os eixos apresentou um padrão geográfico. Os componentes principais contrastam indivíduos com cantos de maior duração e de maior número de notas no quadrante positivo de indivíduos com cantos de maior número de notas por segundo. Similarmente como foi para a população de São José dos Pinhais-PR, a ACP entre as populações de *H. heyeri* expõe a presença de duas estratégias distintas de cantos como a principal diferença dentre as populações. Possivelmente esse resultado está ligado ao fato de que a maioria das populações analisadas teve poucos machos amostrados (um indivíduo para as populações de Guaratuba, Piraquara, Iporanga e Garuva e três indivíduos para as duas populações de Joinville). Assim, os componentes principais podem estar representando mais a diferença entre os indivíduos do que a diferença entre as populações propriamente ditas. Outra possibilidade é de que o canto reflita as características do ambiente (GOUTTEETAL, 2016, MUÑOZ et al, 2020) e que as populações mais semelhantes no espaço acústico do PCA tenham riachos com característica semelhantes. No entanto, é necessário para ampliar o conhecimento sobre diferenças populacionais

em anuros e em *H. heyeri* que uma amostragem maior seja feita, tanto nos indivíduos quanto nas características dos riachos.

Nesse trabalho foi demonstrado que é possível detectar estratégias diferentes usadas pelos anuros na sua comunicação em duas escalas diferentes. Dentro das populações existem indivíduos que investiram em cantos mais longos e indivíduos que investem em cantos mais curtos, mais espaçados no tempo e com maior número de notas por segundo. Essa mesma variação pode ser encontrada em uma escala espacial maior, entre populações. A variação entre populações mostrou um padrão latitudinal e longitudinal na estrutura do canto.

REFERÊNCIAS

- ARAYA-SALAS, M.; SMITH-VIDAURRE, G. warbler: an R package to streamline analysis of animal acoustic signals. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 8, n. 2, p. 184-191, 2017.
- BEE, M. A.; SUYESH, R.; BIJU, S. D. Vocal behavior of the Ponnudi Bush Frog (*Raorchestes graminirupes*): repertoire and individual variation. **Herpetologica**, v. 69, p. 22 – 35, 2013.
- BELTRAMIN, A. S. **Formação de territórios e estrutura espacial de *Hylodes heyeri* Haddad, Pombal; Bastos 1996 (Anura: Hylodidae)**. 60 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.
- BOECKLE, M.; PREININGER, D.; HÖDI, W. Communication in noisy environments I: Acoustic signals of *Staurois latopalpmatus* Boulenger, 1887. **Herpetologia**, v. 65, n. 2, p. 154 – 165, 2009.
- BOSCH, J.; DE LA RIVA, I. Are frog calls modulated by the environment? An analysis with anuran species from Bolivia. **Canadian Journal of Zoology**, v. 82, n. 6, p. 880-888, 2004.
- CALDART, V. M.; IPO, S.; LINGNAU, R.; CECHIN, S. Z. Communication in a noisy environment: short-term acoustic adjustments and the underlying acoustic niche of a Neotropical stream-breeding frog. **Acta Ethologica**, v. 19, n. 3, p. 151-162, 2016.
- CHAMBERS, J. M. Linear models. **Statistical Models in S** eds J. M. Chambers and T. J. Hastie, Wadsworth & Brooks/Cole, 1992.
- CUNHA, A. K.; OLIVEIRA, I. S.; HARTMANN, M. T. Anurofauna da Colônia Castelhanos, na Área de Proteção Ambiental de Guaratuba, Serra do Mar paranaense, Brasil. **Biotemas**, v. 23, n. 2, p. 123 – 134, 2010.
- COMITTI, E. J. ***Hylodes Fitzinger, 1826 (Anura: Hylodidae) do Sul do Brasil: Taxonomia, Distribuição e Biologia***. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas – Zoologia) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2016.
- DE SÁ, F. P. **Uma nova espécie de *Hylodes (Anura, Hylodidae) da Serra do Japi: Descrição, modo reprodutivo e comunicação***. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas (Zoologia)) – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, São Paulo, 2013.
- DE SÁ, F. P.; ZINA, J.; HADDAD, C. F. B. Sophisticated communication in the Brazilian torrent frog *Hylodes japi*. **PLoS One**, n. 11, e0145444, 2016.
- DUELLMAN, W. E.; PYLES, R. A. Acoustic resource partitioning in anuran communities. **Copeia**, p. 639-649, 1983.

ERDTMANN, L. K.; LIMA, A. P. Environmental effects on anuran call design: what we know and what we need to know. **Ethology ecology & evolution**, v. 25, n. 1, p. 1-11, 2013.

EY, E.; FISCHER, J. The “Acoustic Adaptation Hypothesis”— A Review Of The Evidence From Birds, Anurans And Mammals, **Bioacoustics**, v. 19, n. 1-2, p. 21-48, 2009.

FORTI, L. R. et al. Advertisement call and genetic structure conservatism: goodnews for an endangered Neotropical frog. **PeerJ**. 2014. Disponível em: <<https://peerj.com/articles/2014/#p-3>>. Acesso em: 21 abr. 2021.

FORTI, L. R.; MÁRQUEZ, R.; BERTOLUCI, J. Advertisement call of *Dendropsophus microps* (Anura: Hylidae) from two populations of southeastern Brazil. **Zoologia**, v. 32, p. 187 – 194, 2015.

FROST, D. R. **Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.1 (2021)**. American Museum of Natural History, New York, USA. Disponível em: <<https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>>. Acesso em: 14 abr. 2021.

GERHARDT, H. C. Multiple messages in acoustic signals. Em: **Seminars in Neuroscience:AcademicPress**, v. 4, n. 6, p. 391-400, 1992

GERHARDT, H.C. The evolution of vocalization in frogs and toads. **Annual Reviews of Ecology and Systematics**, v. 25, p. 293–324, 1994a.

GERHARDT, H.C. Reproductive character displacement of female mate choice in the grey treefrog, *Hyla chrysoscelis*. **Animal Behaviour**, v. 47, p. 959–969, 1994b

GERHARDT, H.C.; HUBER, F. Acoustic Communication in Insects and Frogs: Common Problems and Diverse Solutions. **University of Chicago Press**, Chicago, p. 542, 2002.

GOUTTE, S., DUBOIS, A., HOWARD, S.D., MARQUEZ, R., ROWLEY, J. J. L., DEHLING, J. M., GRANDCOLAS, P., RONGCHUAN, X. AND LEGENDRE, F. Environmental constraints and call evolution in torrent-dwelling frogs. **Evolution**, n. 70, p. 811-826, 2016.

HADDAD, C. F. B.; CARDOSO, A. J. Elección del macho por la hembra de *Hyla minuta* (Amphibia: Anura). **Acta Zoologica Lilloana**, n. 41, p. 81 – 91, 1992.

HADDAD, C. F. B; GARCIA, P. C. A.; POMBAL, J. P. Redescrção de *Hylodes perplicatus* (Miranda-Ribeiro, 1926) (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). **Arquivos do Museu Nacional**, v. 61, n. 4, p. 245-254, 2003.

HADDAD, C. F. B.; GIARETTA, A. A. Visual and acoustic communication in the brazilian torrent frog: *Hylodes Asper* (Anura: Leptodactylidae). **Herpetologia**, v. 55, n. 3, p. 324 – 333, 1999.

HADDAD, C. F. B.; POMBAL, J. P.; BASTOS, R. P. New species of *Hylodes* from the Atlantic Forest of Brazil (Amphibia: Leptodactylidae). **Copria**, n. 4, p. 965 – 969, 1996.

HATANO, F. H.; ROCHA, C. F. D.; VAN SLUYS, M. Environmental factors affecting calling activity of a tropical diurnal frog (*Hylodes phyllodes*: Leptodactylidae). **Journal of herpetology**, p. 314-318, 2002.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Diretoria de Geociências(DGC)- Coordenação de Recursos Naturais e Estudos Ambientais (CREN). Disponível em: <<https://portaldemapas.ibge.gov.br/portal.php#homepage>> Acesso em: 18/08/2021.

IGUCHI, J. M. S. **Revisão acústica do canto de anúncio de *Hylodes* do grupo *H. lateristrigatus* (Hylodidae; Anura; Amphibia): implicações taxonômicas**. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências, Área: Biologia Comparada) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Riberão Preto da USP, São Paulo, 2013.

IUCN 2021. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2021-1. Disponível em: <<https://www.iucnredlist.org>>. Acesso em 20/04/2021.

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

LAIA, R. C.; ROCHA, C. F. D. Adults and tadpoles of species of Hylodidae (Anura): History and taxonomy perspectives. **Zoologia (Curitiba)**, v. 29, p. 89-94, 2012.

LIGGES, U.; KREY, S.; MERSMANN, O.; SCHNACKENBERG, S. **tuneR: Analysis of Music and Speech**. Disponível em: <<https://CRAN.R-project.org/package=tuneR>>. Acesso em: 21 abr. 2021.

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

LINGNAU, R.; CANEDO, C.; POMBAL, J. P. A new species of *Hylodes* (Anura: Hylodidae) from Brazilian Atlantic Forest. **Copeia**, n. 3, p. 595 – 602, 2008.

LITTLEJOHN, M. J. Premating isolation in the *Hyla ewingi* complex (Anura: Hylodidae). *Evolution*, v. 19, p. 234 – 243, 1965.

METZGER, J. O que é ecologia de paisagens? **Biota Neotropica**, v. 28, n. 11, p. 1-9, 2001. Disponível em: <<https://www.biotaneotropica.org.br/v1n12/en/fullpaper?bn00701122001+pt>>. Acesso em: 21 abr. 2021.

MUÑOZ, MI, GOUTTE, S, ELLERS, J, HALFWERK, W. Environmental and morphological constraints interact to drive the evolution of communication signals in frogs. **J. Evol. Biol.** n. 33, p. 1749 – 1757, 2020.

MONTEIRO, J. P. C.; COMITTI, E. J.; LINGNAU, R. First Record of the torrent frog *Hylodes heyeri* (Anura, Hylodidae) in Santa Catarina State, South Brazil and acoustic comparison with the cryptic species *Hylodes perplicatus* (Anura, Hylodidae). **Biotemas**, v. 27, n. 4, p. 93 – 99, 2014.

NARVAES, P.; RODRIGUES, M. T. Visual communication, reproductive behavior, and home range of *Hylodes dactylocinus* (Anura, Leptodactylidae). **Phyllomedusa: Journal of Herpetology**, v. 4, n. 2, p. 147-158, 2005.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B. A vida dos vertebrados – 4ª edição – São Paulo, **Atheneu Editora**, 2008.

PRESTWICH, K. N. The energetics of acoustic signaling in anurans and insects. **American Zoologist**, v. 34, n. 6, p. 625-643, 1994.

REINHOLD, K. Variation in acoustic signalling traits exhibits footprints of sexual selection. **Evolution**, v. 65, p. 738 – 745, 2011.

ROLLINS-SMITH, L. A. Amphibian immunity–stress, disease, and climate change. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 66, p. 111-119, 2017.

ROYSTON, P. An extension of Shapiro and Wilk's *W* test for normality to large samples. **Applied Statistics**, v. 31, p. 115–124, 1982.

SEGALLA, M. V. et al. List of Brazilian Amphibians. **Herpetologia Brasileira**, v. 10, n. 1, p. 121-216, 2019.

SEGALLA, M. V.; PAVAN, D. *Hylodes heyeri*. **The IUCN RedList of Threatened Species 2004**: e.T57091A11569126, 2021.

STRUETT, M. M. **Dinâmica populacional de *Hylodes heyeri* Haddad; Pombal; Bastos 1996 (Anura: Hylodidae)** Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2018.

SUEUR, J. Sound analysis and Synthesis with R. **Springer Nature**, 2018.

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

STUART, S. N. et al. Status and Trends of Amphibian Declines and Extinctions Worldwide. **Science**, v. 306, n. 5702, p.1783-1786, 2004.

THEODORSSON-NORHEIM, E. Kruskal-Wallis test: BASIC computer program to perform non-parametric one-way analysis of variance and multiple comparison on ranks of several independent samples. **Computer methods and programs in biomedicine**, v. 23, n.1, p. 57-62, 1986.

TOLEDO, Luís F. et al. The anuran calling repertoire in the light of social context. **Acta ethologica**, v. 18, n. 2, p. 87-99, 2015.

VIEITES, D. R. et al. Vast underestimation of Madagascar's biodiversity evidenced by an integrative amphibian inventory. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 106, n. 20, p. 8267-8272, 2009.

VIELLIARD, J. M. E.; CARDOSO, A. J. Adaptação de sinais sonoros de anfíbios e aves a ambientes de riachos com corredeiras. In: **Herpetologia neotropical. Acta Del II Congresso Latino Americano de Herpetologia, Universidad de Los Andes (JE Pefaur, ed.). Consejo de Desarrollo, Humanístico y Tecnológico, Merida, Venezuela.** 1996. p. 97-119.

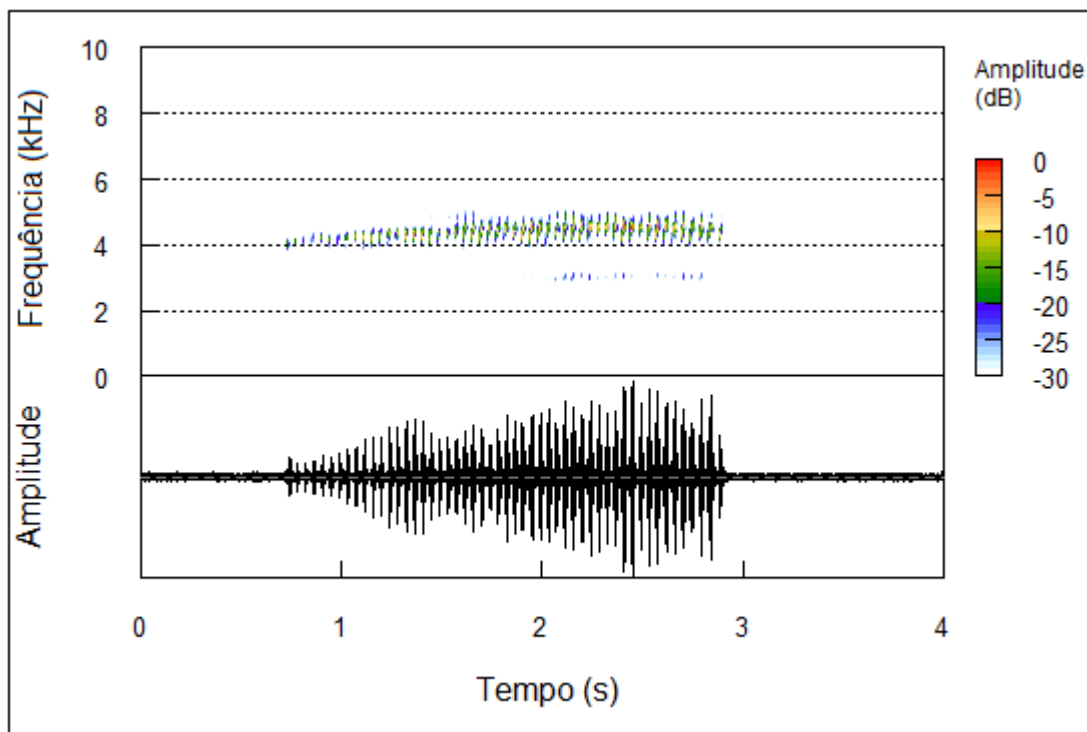
WELLS, K. D. The social behaviour of anuran amphibians. **Animal Behaviour**, n. 25, p. 666-693, 1977.

WICKHAM, H. ggplot2. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics**, v. 3, n. 2, p. 180-185, 2011.

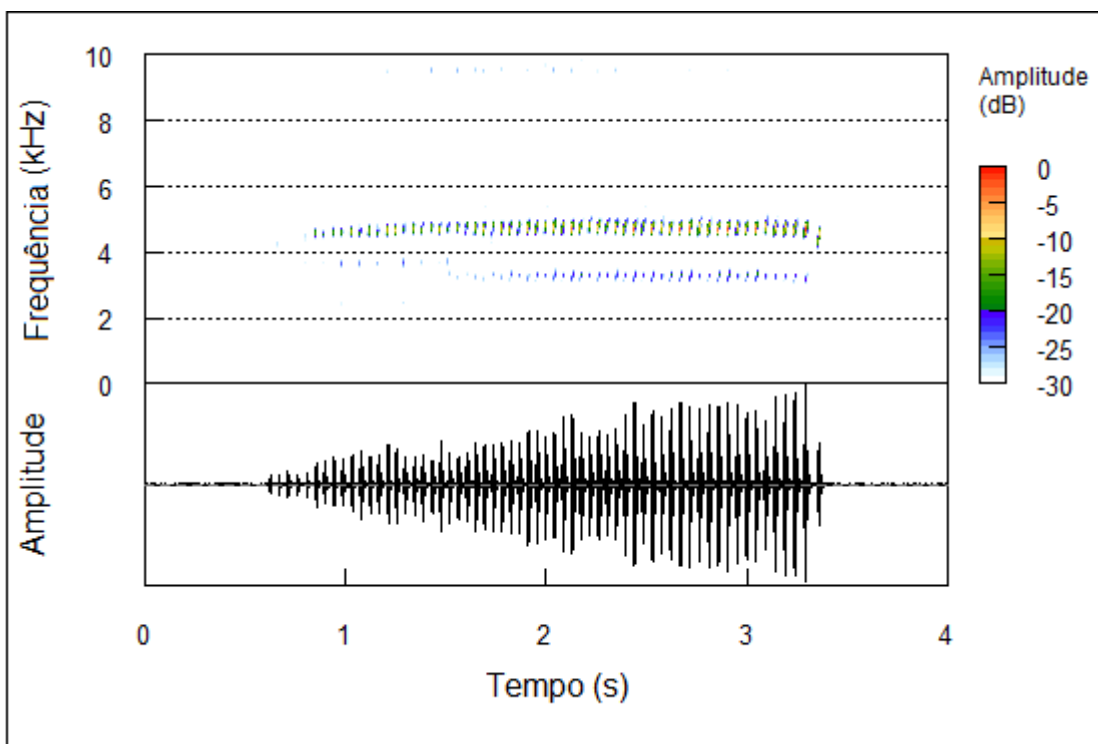
WELLS, K. D.. The ecology and behavior of amphibians. University of Chicago press, 2010.

ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. Pearson Education India, 1999.

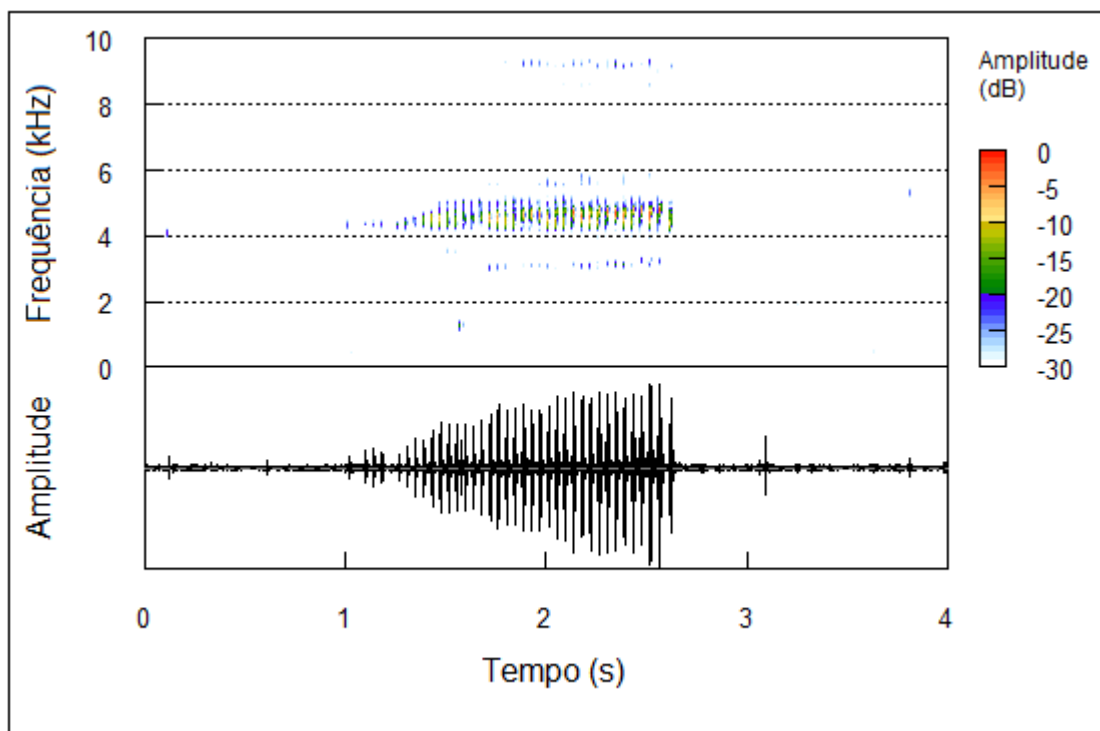
ZIEGLER, L; ARIM, M.; BOZINOVIC, F. Intraspecific scaling in frog calls: the interplay of temperature, body size and metabolic condition. **Oecologia**, v. 181, n. 3, p. 673-681, 2016.

APÊNDICE 1 - OSCILO-ESPECTROGRAMAS DOS INDIVÍDUOS ANALISADOS**SÃO JOSÉ DOS PINHAIS INDIVÍDUO 1**

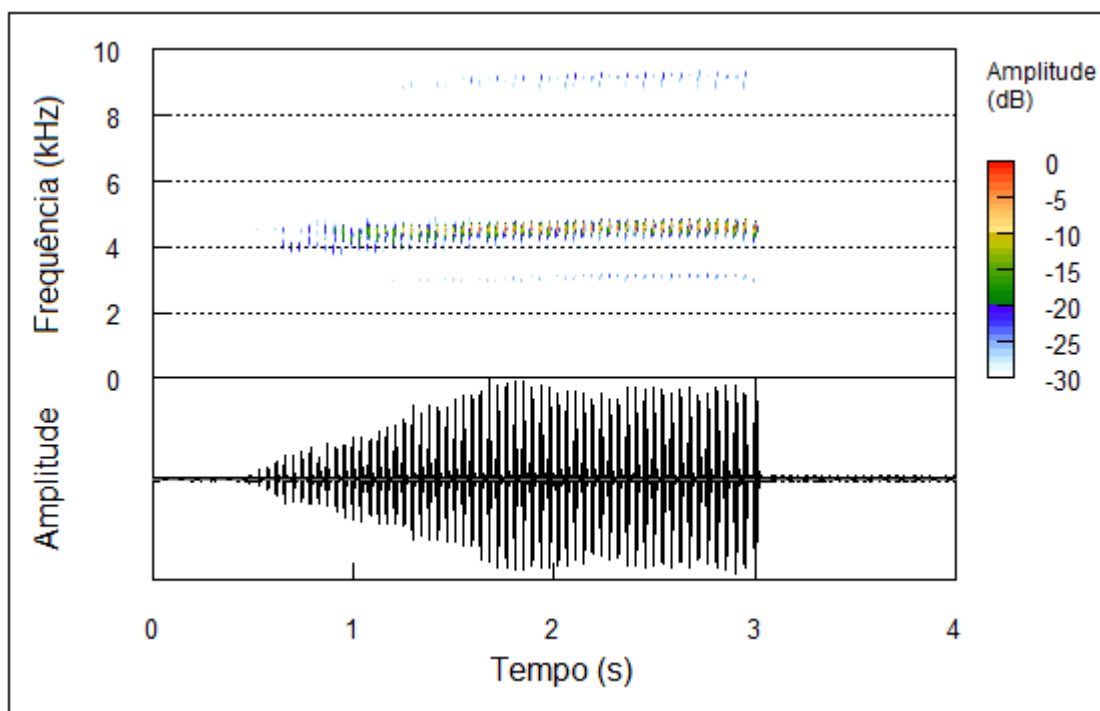
LEGENDA: FFT = 512 E SOBREPOSIÇÃO DE 90%

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS INDIVÍDUO 2

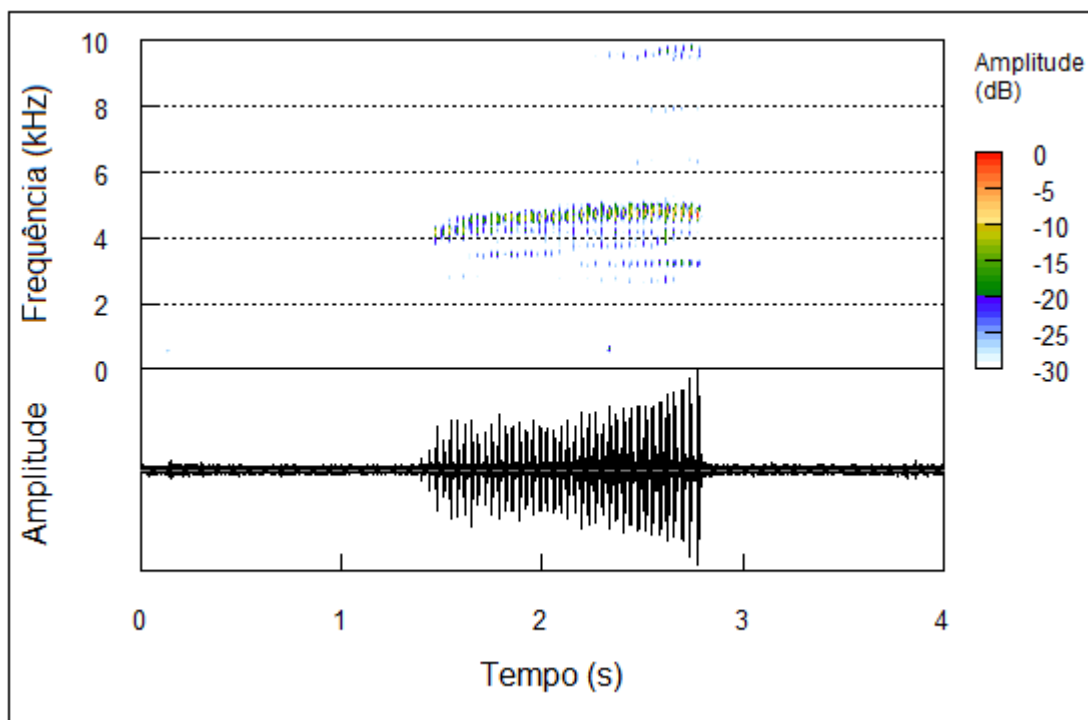
LEGENDA: FFT = 512 E SOBREPOSIÇÃO DE 90%

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS INDIVÍDUO 3

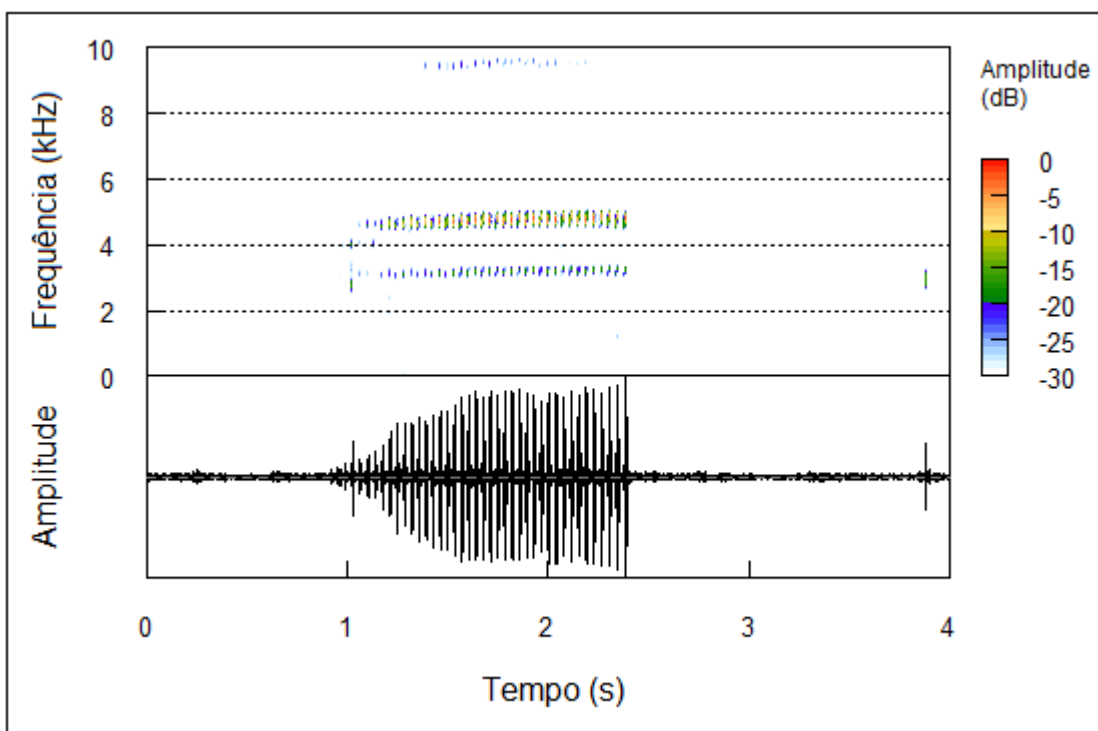
LEGENDA: FFT = 512 E SOBREPOSIÇÃO DE 90%

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS INDIVÍDUO 4

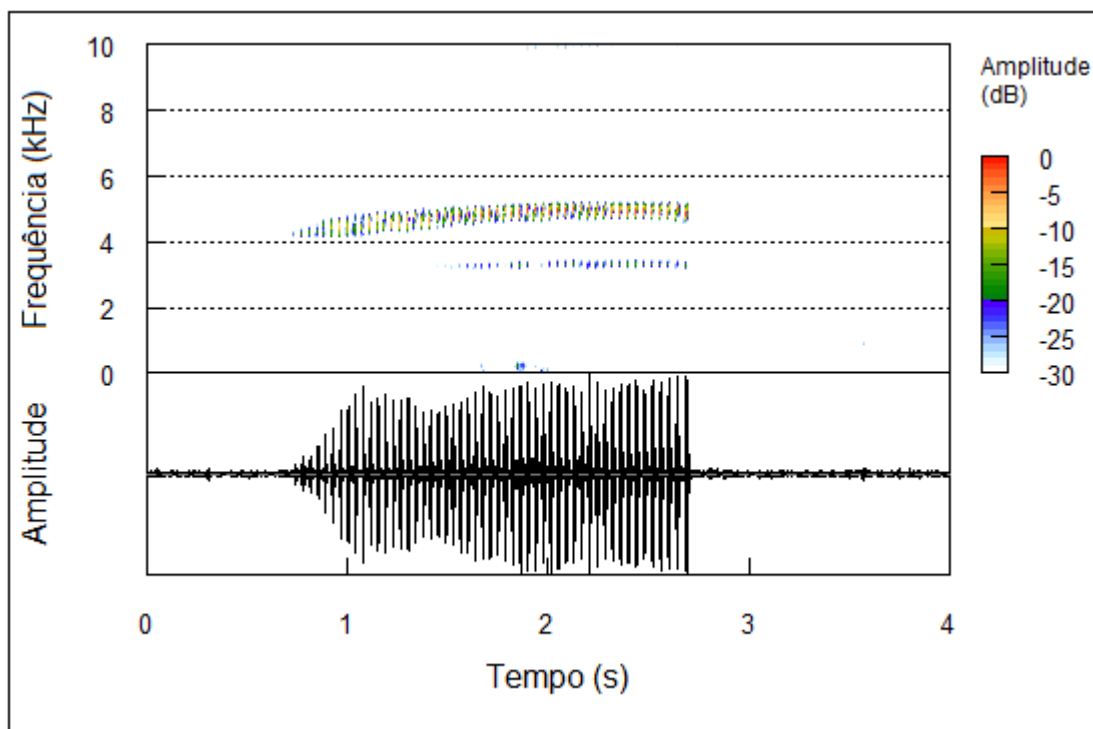
LEGENDA: FFT = 512 E SOBREPOSIÇÃO DE 90%

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS INDIVÍDUO 5

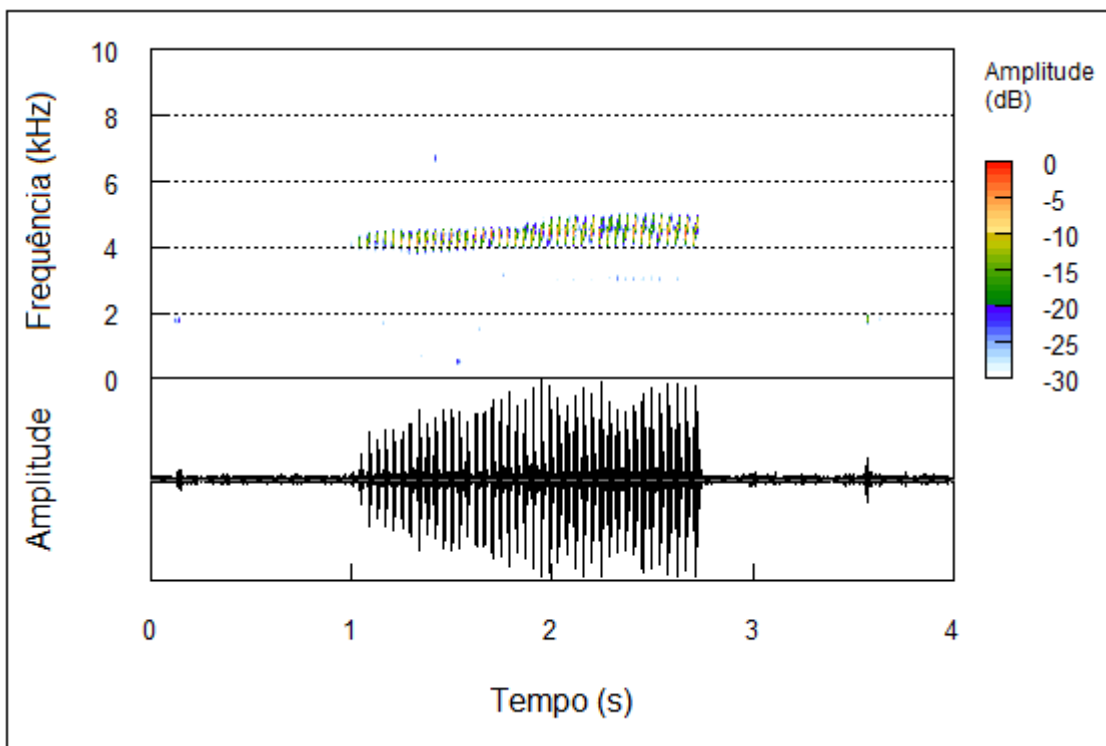
LEGENDA: FFT = 512 E SOBREPOSIÇÃO DE 90%

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS INDIVÍDUO 6

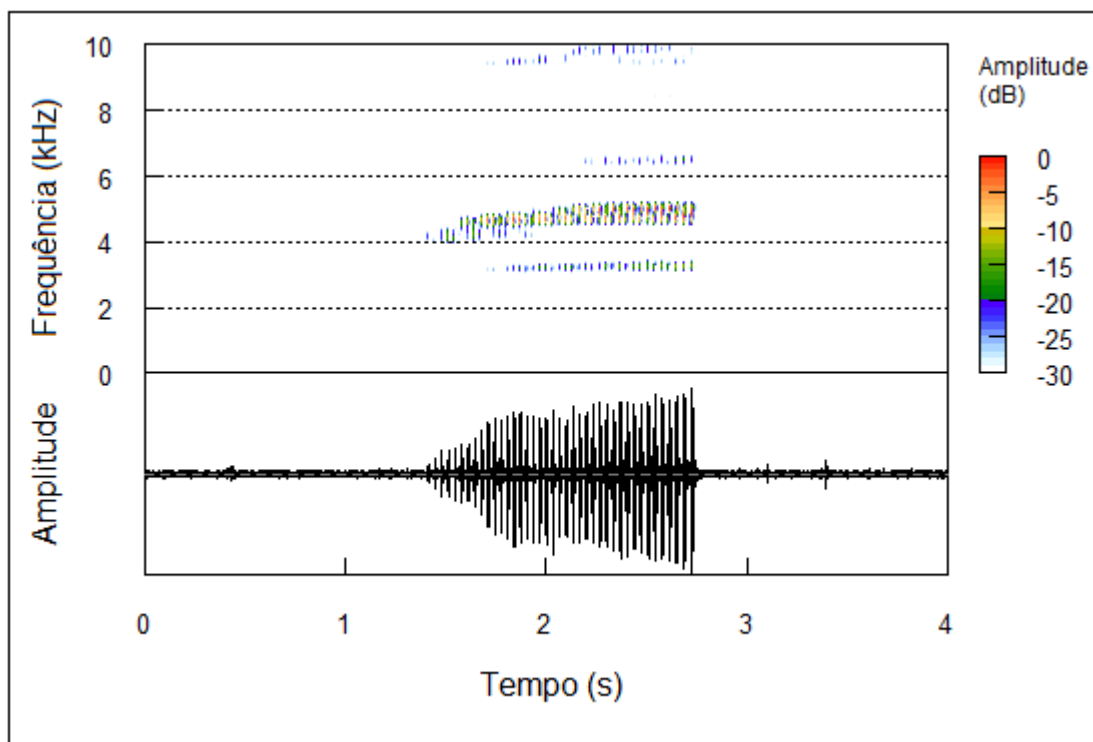
LEGENDA: FFT = 512 E SOBREPOSIÇÃO DE 90%

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS INDIVÍDUO 7

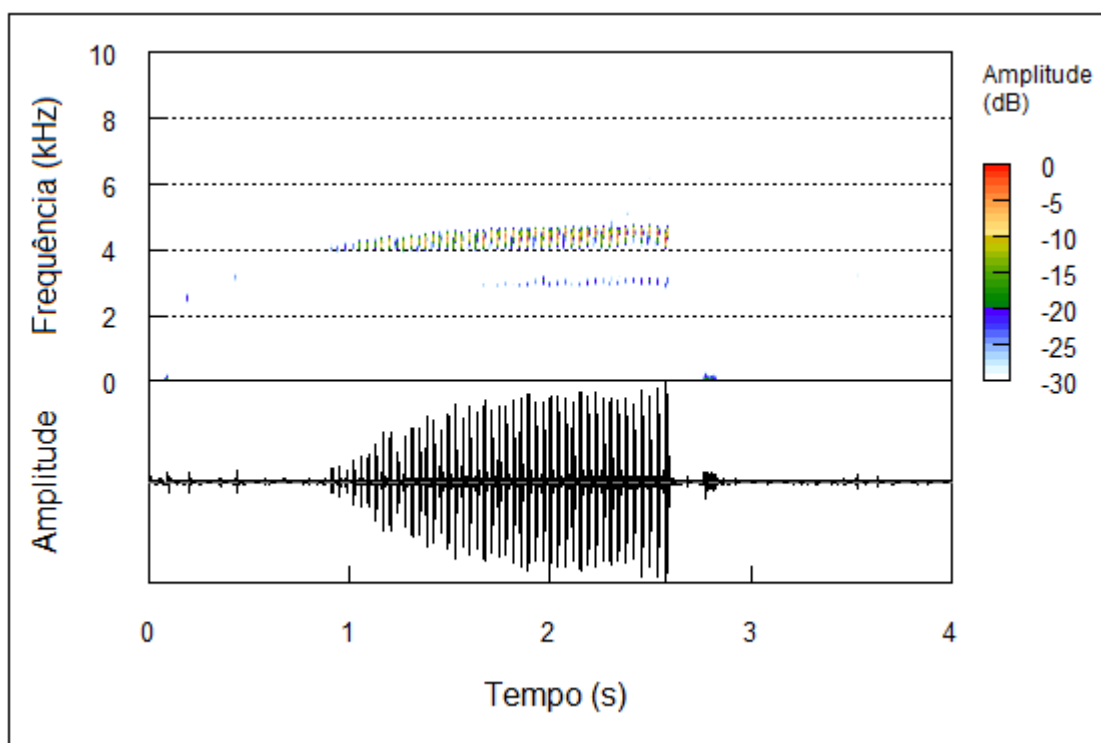
LEGENDA: FFT = 512 E SOBREPOSIÇÃO DE 90%

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS INDIVÍDUO 8

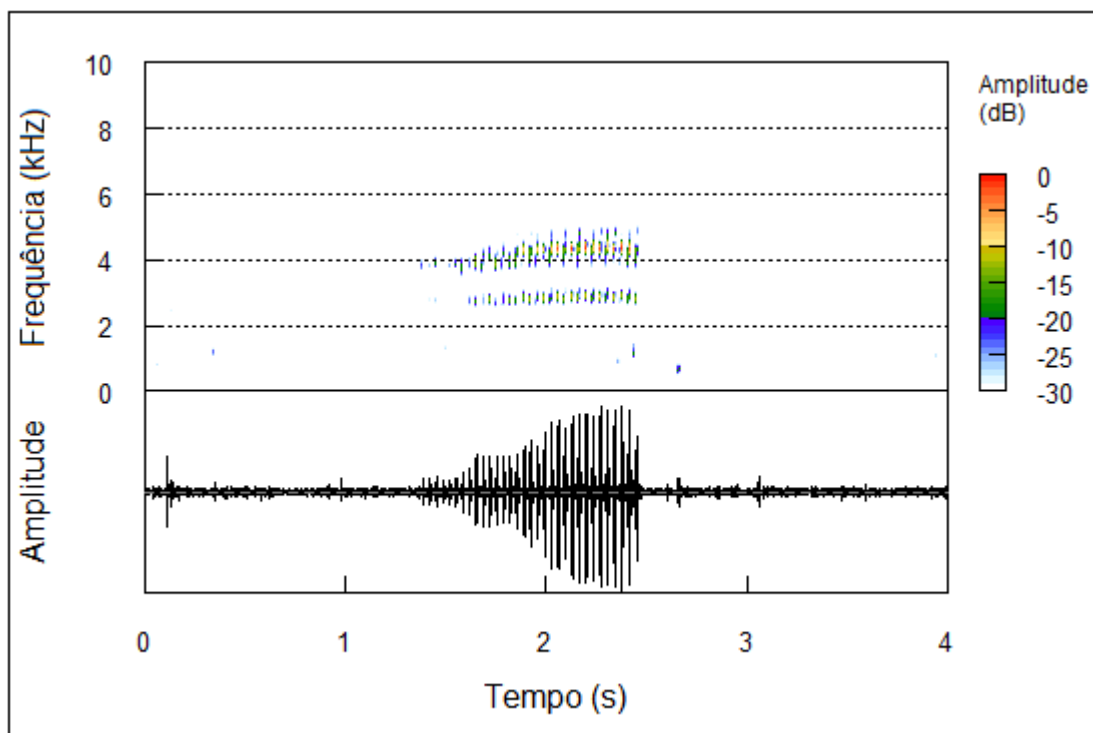
LEGENDA: FFT = 512 E SOBREPOSIÇÃO DE 90%

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS INDIVÍDUO 9

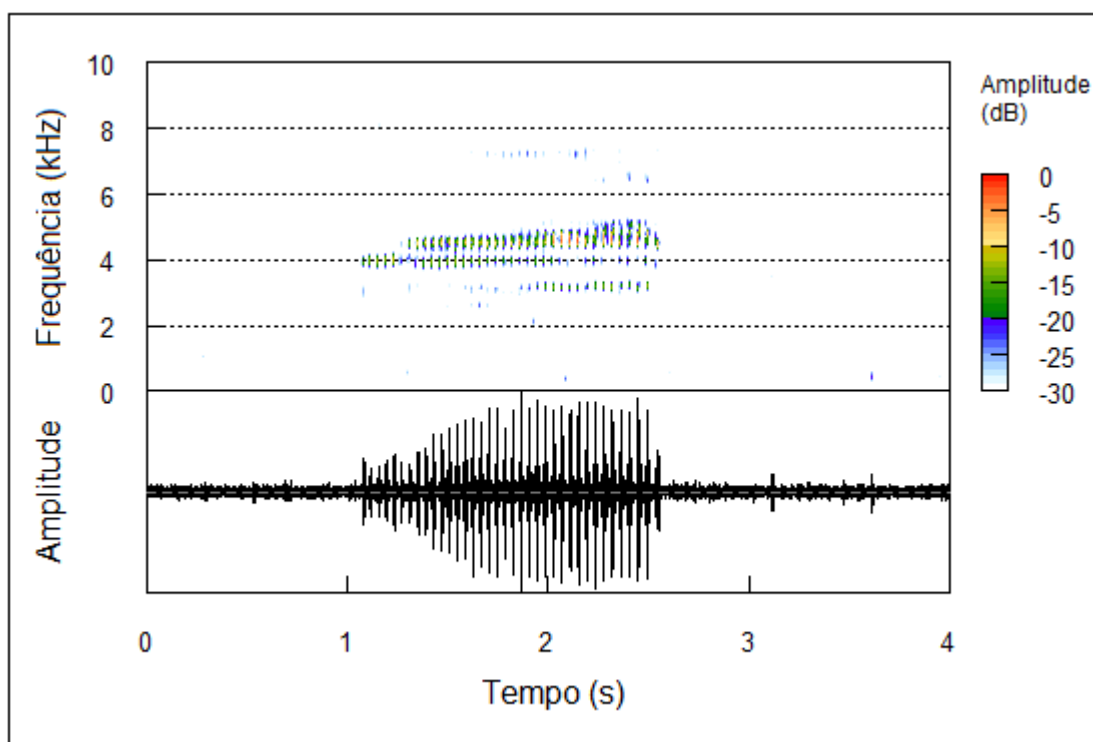
LEGENDA: FFT = 512 E SOBREPOSIÇÃO DE 90%

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS INDIVÍDUO 10

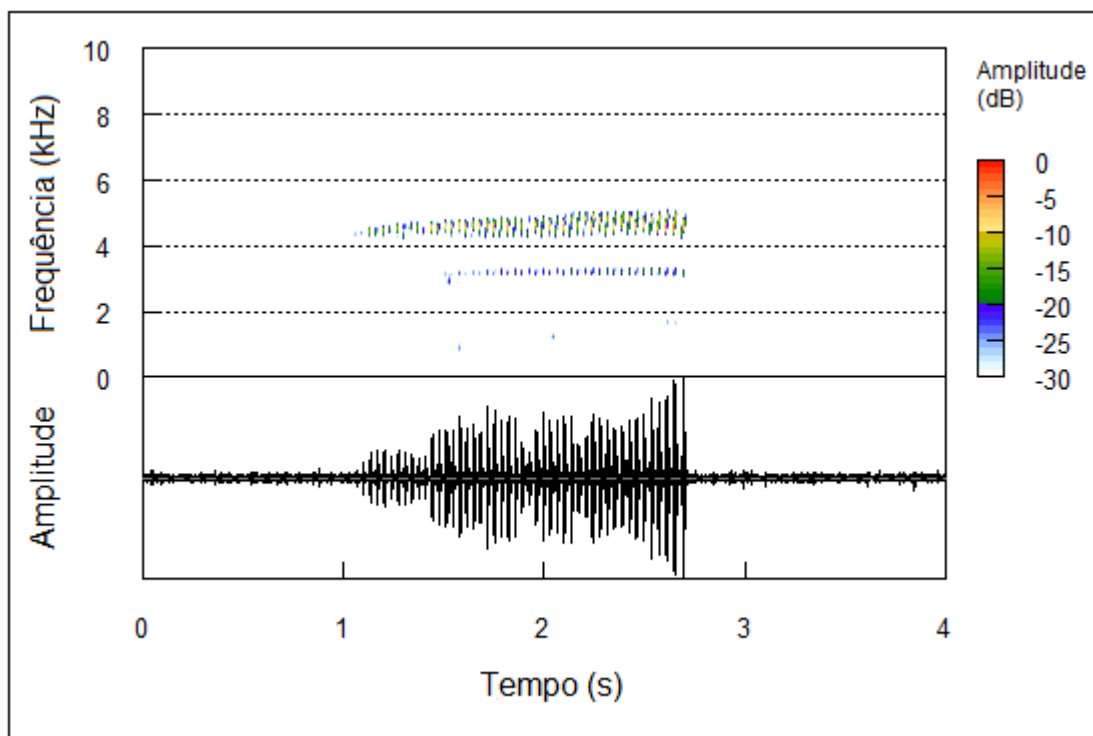
LEGENDA: FFT = 512 E SOBREPOSIÇÃO DE 90%

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS INDIVÍDUO 11

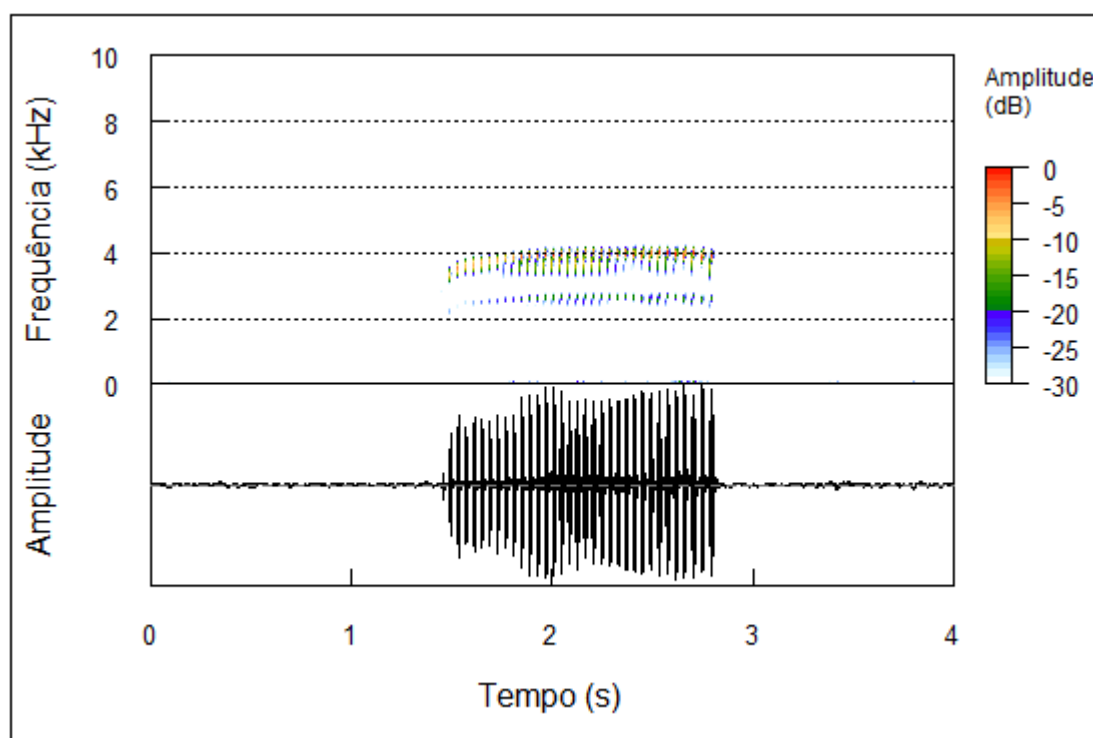
LEGENDA: FFT = 512 E SOBREPOSIÇÃO DE 90%

SÃO JOSÉ DOS PINHAIS INDIVÍDUO 12

LEGENDA: FFT = 512 E SOBREPOSIÇÃO DE 90%

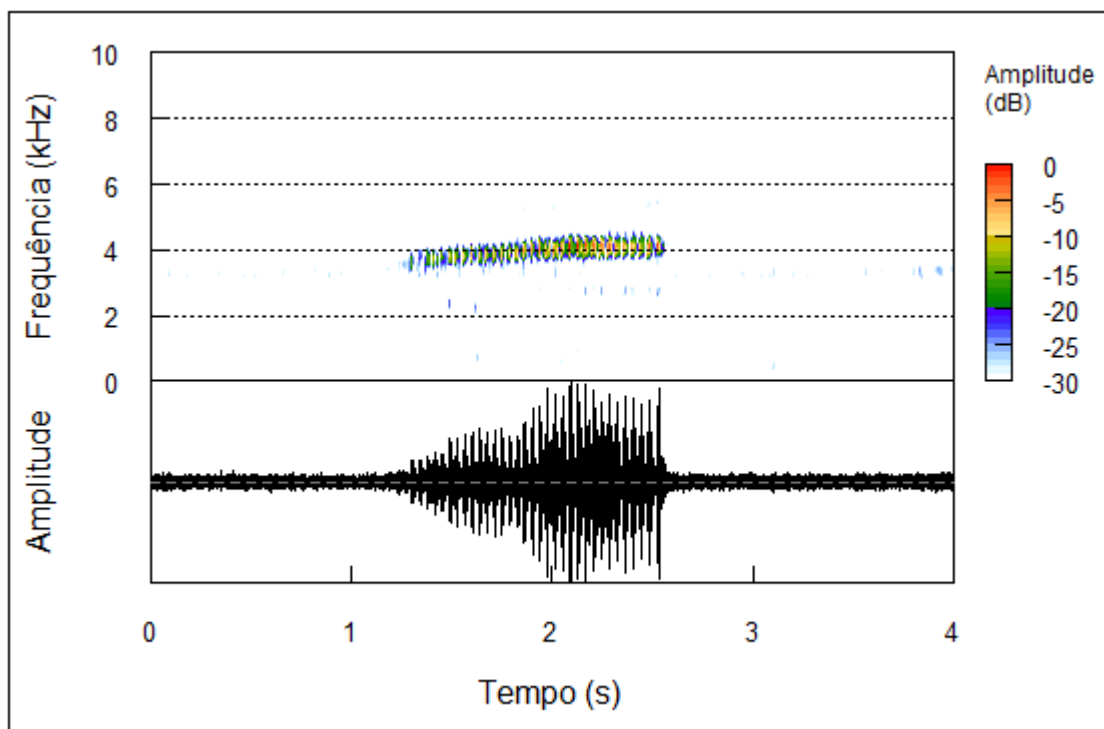
SÃO JOSÉ DOS PINHAIS INDIVÍDUO 13

LEGENDA: FFT = 512 E SOBREPOSIÇÃO DE 90%

PIRAQUARA INDIVÍDUO 1

LEGENDA: FFT = 512 E SOBREPOSIÇÃO DE 90%

IPORANGA INDIVÍDUO 1



LEGENDA: FFT = 512 E SOBREPOSIÇÃO DE 90%