



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
CURSO DE GRADUAÇÃO
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS COM ÊNFASE EM CIÊNCIAS
AMBIENTAIS

MARIA EDUARDA CARVALHO DA SILVA

**ESTEREOTIPIA E VARIABILIDADE EM SINAIS ACÚSTICOS SEXUAIS DA
PERERECA-DA-CAATINGA, *Scinax pachycrus* (MIRANDA-RIBEIRO, 1937)
(ANURA, HYLIDAE) EM BREJOS DE ALTITUDE AO NORTE DO RIO SÃO
FRANCISCO**

Recife

2023

MARIA EDUARDA CARVALHO DA SILVA

**ESTEREOTIPIA E VARIABILIDADE EM SINAIS ACÚSTICOS SEXUAIS DA
PERERECA-DA-CAATINGA, *Scinax pachycrus* (MIRANDA-RIBEIRO, 1937)
(ANURA, HYLIDAE) EM BREJOS DE ALTITUDE AO NORTE DO RIO SÃO
FRANCISCO**

Trabalho de Conclusão de Curso de
Graduação apresentado ao Bacharelado
em Ciências Biológicas com ênfase em
Ciências Ambientais da Universidade
Federal de Pernambuco, como requisito
parcial para obtenção do título de bacharel.

Orientador (a): Pedro Ivo Simões

Coorientador (a): José Henrique de Andrade Lima

Recife

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do programa de geração automática do SIB/UFPE

Silva, Maria Eduarda Carvalho da.

Estereotipia e variabilidade em sinais acústicos sexuais da perereca-da-caatinga, *Scinax pachycrus* (MIRANDA-RIBEIRO, 1937) (ANURA, HYLIDAE) em Brejos de Altitude ao norte do Rio São Francisco/ Maria Eduarda Carvalho da Silva. - Recife, 2023.

38 : il., tab.

Orientador(a): Pedro Ivo Simões

Coorientador(a): José Henrique de Andrade Lima

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, Ciências Biológicas /Ciências Ambientais - Bacharelado, 2023.

Inclui referências, apêndices.

1. Anuros. 2. Bioacústica. 3. Cantos de anúncio. 4. Coeficiente de variação. 5. Vocalização. I. Simões, Pedro Ivo. (Orientação). II. Lima, José Henrique de Andrade. (Coorientação). IV. Título.

590 CDD (22.ed.)

MARIA EDUARDA CARVALHO DA SILVA

**ESTEREOTIPIA E VARIABILIDADE EM SINAIS ACÚSTICOS SEXUAIS DA
PERERECA-DA-CAATINGA, *Scinax pachycrus* (MIRANDA-RIBEIRO, 1937)
(ANURA, HYLIDAE) EM BREJOS DE ALTITUDE AO NORTE DO RIO SÃO
FRANCISCO**

Trabalho de Conclusão de Curso de
Graduação apresentado ao Bacharelado
em Ciências Biológicas com ênfase em
Ciências Ambientais da Universidade
Federal de Pernambuco, como requisito
parcial para obtenção do título de bacharel.

Aprovada em: 20/09/2023

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Pedro Ivo Simões /UFPE (Orientador)

Dra. Rebecca Nimrah Umeed de Souza/UFPE (Suplente)

Msc. Emerson Gonçalves Dias /UFPE (Titular)

Recife

2023

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todos os membros do Laboratório de Herpetologia da UFPE (LHERP) pelos ensinamentos, apoio, ajudas e amizades que foram construídas. Eu não poderia ter tido experiências melhores e conhecido pessoas tão incríveis em outro lugar, de certa forma todos contribuíram de algum modo para que eu chegasse até aqui.

Mas em especial quero agradecer a Henrique Andrade, mestre e doutorando no LHERP, por ter sido meu coorientador de iniciação científica e TCC. Me ensinou muito do que aprendi durante meu tempo de estágio e me possibilitou ter oportunidades de trabalho de campo e de bancada que me prepararam para a realização do meu trabalho de conclusão de curso e para o futuro, além de ter se tornado um ótimo amigo.

Quero agradecer também ao Professor Dr. Pedro Ivo pela orientação, que foi sempre bastante atencioso e disponível para tirar dúvidas, ensinar e ajudar sempre que necessário, além de sugerir novas ideias que me permitiram explorar áreas para me descobrir na ciência. Sou muito grata aos ensinamentos e oportunidades, fico feliz de tê-lo tido como orientador.

Além de também agradecer a todos os amigos que fiz durante a graduação, principalmente aos mais próximos que pretendo levar para a vida toda: Cauane, Leonardo, João Víctor, Laura, Maria Júlia, Juliana, Marcos, Pablo e Brenno. Assim como a minha família, em especial a minha mãe por sempre me incentivar a estudar e me motivar nos momentos difíceis. E a João Luiz que está sempre comigo e me apoia em tudo que me proponho a fazer.

RESUMO

A bioacústica é uma ferramenta importante para o entendimento de algumas dinâmicas populacionais, permitindo o estudo de interações entre os animais através de vocalizações e outros sinais acústicos. Neste estudo avaliamos a variabilidade em vocalizações de machos da espécie *Scinax pachycrus* (Anura, Hylidae), buscando identificar quais propriedades dos cantos de anúncio são potencialmente úteis para a discriminação entre indivíduos nesta espécie, assim como propriedades associadas à existência de diferenciação interpopulacional. Para isto, gravamos cantos de anúncio de 32 machos em quatro florestas serranas (Brejos de Altitude) nos Estados de Alagoas e Pernambuco. A partir das gravações de em média 10 cantos de cada indivíduo, medimos 10 variáveis acústicas espectrais e temporais. Calculamos os coeficientes de variação intraindividuais, intrapopulacionais e interpopulacionais de cada variável acústica. Realizamos testes de regressão linear simples para verificar a influência do tamanho corporal e da temperatura no momento da gravação sobre as variáveis acústicas. Foi utilizada uma análise de componentes principais (PCA) para reduzir a dimensionalidade dos dados acústicos e testes de ANOVA e Kruskal-Wallis para testar diferenças acústicas entre as populações. Os coeficientes de variação indicaram que o nível intraindividual se mantém predominantemente estático, enquanto os intra e interpopulacionais são principalmente dinâmicos. Tamanho corporal e temperatura do ar mostraram pouca e baixa influência sobre a variação nos parâmetros acústicos. Os parâmetros com variação significativa entre as populações foram largura de banda e frequência baixa. Uma das populações demonstrou maior distanciamento, podendo ser resultado do seu maior distanciamento geográfico e possível isolamento em relação às demais populações. Nossos resultados indicam que através dos parâmetros estáticos no nível intraindividual há possível reconhecimento individual nas populações estudadas. Além disso, alguns parâmetros podem atuar na discriminação de indivíduos de populações diferentes, especialmente aquelas mais distantes geograficamente.

Palavras-chave: Anuros. Bioacústica. Cantos de anúncio. Coeficiente de variação. Vocalização.

ABSTRACT

Bioacoustics is an important tool for understanding some population dynamics, allowing studies of interactions among animals through vocalizations. In this study, we evaluated the variability in vocalizations of males of the frog *Scinax pachycrus* (Anura, Hylidae), with the purpose of identifying which properties of their advertisement calls are potentially useful for discrimination between individuals, as well as properties associated with acoustic differentiation among populations. We recorded advertisement calls of 32 males in four highland forest enclaves in the states of Alagoas and Pernambuco. From the recordings of an average of 10 calls of each individual, we measured 10 spectral and temporal acoustic variables. Then, we calculated within individual, intra and interpopulation coefficients of variation for each acoustic variable. We used simple linear regression tests to verify the influence of body size and temperature at the time of the recording on acoustic variables. We used principal component analysis (PCA) to reduce the dimensionality of acoustic data and ANOVA and Kruskal-Wallis tests were used to test acoustic differences between populations. The coefficients of variation indicated that the within individual level of variation of acoustic variables remains predominantly static, while the within population and interpopulation levels are mainly dynamic. Body size and air temperature showed little and low influence on the variation in acoustic parameters. Variables with significant variation between populations were frequency bandwidth and the lower frequency of the call. One population was highly acoustically differentiated from the remaining, which could be the result greater geographic distance and geographic isolation from the other populations. Our results indicate that through static parameters at the within individual level there is a possible individual recognition in the studied populations. In addition, some parameters can act to discriminate individuals from different populations, especially those that are geographically more distant.

Keywords: Advertisement call. Anurans. Bioacoustics. Coefficient of variation. Vocalization.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Posição geográfica das localidades de estudo sobre o Planalto da Borborema (tracejado em vermelho). O número de indivíduos gravados/coletados por área é informado dentro das caixas. 15
- Figura 2 – Coloração em vida (foto à direita) e representação gráfica do canto de anúncio de *Scinax pachycrus*: Oscilograma (A), espectrograma (B) e espectro de frequências (C) do canto de anúncio de um macho gravado. 16
- Figura 3 – Distribuição de 32 indivíduos de quatro populações de *Scinax pachycrus* ao longo do primeiro e segundo componentes principais gerados a partir dos valores médios individuais de parâmetros acústicos temporais e espectrais cantos de anúncio (PC1 representando 81% da variação acústica e PC2 representando 15% da variação acústica). 22

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Estatísticas descritivas de propriedades acústicas temporais e espectrais dos cantos de anúncio de <i>Scinax pachycrus</i> amostrados em quatro florestas serranas dos estados de Pernambuco e Alagoas, e seus coeficientes de variação intraindividuais (CVwi), intrapopulacionais (CVwp) e interpopulacionais (CVo). As variáveis são classificadas como estáticas, intermediárias ou dinâmicas de acordo com critérios propostos por Gerhardt (1991).	19
Tabela 2 –	Classificação de propriedades acústicas temporais e espectrais, dos cantos de anúncio de <i>Scinax pachycrus</i> , em estáticas, intermediárias ou dinâmicas para as quatro florestas serranas dos estados de Pernambuco e Alagoas.	20
Tabela 3 –	Resultados das regressões lineares simples entre temperatura do ar/ comprimento rostro-cloacal (CRC) e parâmetros acústicos de 32 indivíduos de quatro populações de <i>Scinax pachycrus</i> de Brejos de Altitude.	21
Tabela 4 –	Teste de Tukey para diferenças acústicas entre quatro populações de <i>Scinax pachycrus</i> utilizando resultados do primeiro componente principal de uma PCA.	23
Tabela 5 –	Resultados dos testes estatísticos de ANOVA e Kruskal-Wallis para diferenças entre quatro populações de <i>Scinax pachycrus</i> em relação a parâmetros acústicos.	24
Tabela 6 –	Testes de Mann-Whitney com correção de Bonferroni utilizando os parâmetros acústicos frequência mais baixa e largura de banda de quatro populações de <i>Scinax pachycrus</i> .	25

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 METODOLOGIA	13
2.1 ESPÉCIE DE ESTUDO	13
2.2 ÁREA DE ESTUDO	14
2.3 AQUISIÇÃO DE DADOS	15
2.4 ANÁLISE DE DADOS	17
3 RESULTADOS	18
4 DISCUSSÃO	26
5 CONCLUSÃO	29
REFERÊNCIAS	30
APÊNDICES	38

1 INTRODUÇÃO

A comunicação entre indivíduos de uma mesma espécie consiste na emissão e recepção de sinais contendo alguma informação biológica como informações que indiquem sua identidade, localização ou estado comportamental. Portanto, essencial na intermediação de interações ecológicas e sociais (Bradbury; Vehrencamp, 1998). Em contraste com grupos animais nos quais tanto machos quanto as fêmeas têm a capacidade de produzir vocalizações, na maioria das espécies de anuros, apenas o macho é capaz de vocalizar (Goyes Vallejos *et al.*, 2017). Suas vocalizações são usadas principalmente para atrair fêmeas ou para defender seus territórios contra outros machos. O tipo de vocalização mais frequentemente utilizado pelos machos, e que normalmente exerce estas duas funções, é chamado de canto de anúncio (Wells, 1977; Köhler *et al.*, 2017), o qual também possui importante papel no reconhecimento e discriminação entre os indivíduos de uma população ou de populações diferentes (Bee *et al.*, 2010).

Os cantos de anúncio podem ser caracterizados por meio de parâmetros acústicos, temporais (duração da nota, número de pulsos etc.) ou espectrais (frequência dominante, largura de banda etc.). Estes parâmetros podem variar entre os cantos de indivíduos de uma população, e mesmo entre os cantos de um mesmo indivíduo, devido à variabilidade em características intrínsecas (por exemplo, tamanho, condição corporal, morfologia da laringe) e extrínsecas ao organismo (por exemplo, variação em temperatura ambiental) (Gingras *et al.*, 2012).

A variabilidade intraindividual, intrapopulacional e interpopulacional em parâmetros acústicos temporais e espectrais dos cantos de anuros pode ser quantificada, permitindo inferências sobre quais destes parâmetros são potencialmente mais úteis para o reconhecimento individual e quais podem estar associados à diferenciação acústica entre populações. Para isto, utiliza-se o cálculo de coeficientes de variação (CV) destes parâmetros. Neste sentido, os valores dos CVs podem ser categorizados, de forma a indicar parâmetros acústicos como dinâmicos, ou seja, altamente variáveis, ou estáticos (Gerhardt, 1991). Estes valores refletem, potencialmente, a capacidade de indivíduos reconhecerem as vocalizações

de outros indivíduos, pois se um parâmetro é dinâmico, sugere-se que ele varia mais facilmente em resposta a fatores extrínsecos, sendo menos provável que esta seja uma variável útil para o reconhecimento entre indivíduos, ou que tenha relação com diferenciação acústica entre populações (Bee *et al.*, 2013).

As características das vocalizações de anuros também são influenciadas pelo isolamento reprodutivo (West-Eberhard, 1983). Uma vez que os cantos de anúncio são herdados geneticamente e não são modificados por aprendizagem (Heyer; Reid, 2003), populações alopátricas frequentemente apresentam diferenciação acústica, decorrente de processos de deriva genética ou de adaptação ao ambiente de transmissão em diferentes locais (Panhuis *et al.*, 2001; Gerhardt; Huber, 2002; Kaefer *et al.*, 2013; Guerra *et al.*, 2018). Neste sentido, barreiras biogeográficas ou o isolamento em diferentes remanescentes de um habitat específico podem estar associadas à diferenciação em um ou mais parâmetros acústicos entre populações de uma espécie (Amézquita *et al.*, 2009).

Apesar de frequentemente avaliadas em diferentes espécies de anuros no mundo todo (Bee; Gerhardt, 2001; Gasser; Amézquita; Hödl, 2009; Kaefer; Lima, 2012), não há um consenso a respeito da variabilidade e da estereotipia de diferentes parâmetros acústicos dos cantos de anúncio em anuros. Por exemplo, parâmetros temporais, como a duração dos cantos, podem ser considerados dinâmicos ou estáticos/estereotipados, dependendo da espécie estudada e do número de indivíduos ou populações avaliadas (Forti *et al.*, 2016; Bee *et al.*, 2001; Howard; Young, 1998). A dificuldade em se observar padrões mais gerais descrevendo a variabilidade em parâmetros acústicos de cantos de anuros também é agravada pelo número relativamente pequeno de espécies já avaliadas em regiões hiperdiversas, como os biomas tropicais do Brasil.

Visando contribuir com a ampliação do conhecimento sobre a variabilidade em sinais acústicos em espécies de anuros neotropicais, neste estudo investigamos a variabilidade intraindividual, intrapopulacional e interpopulacional em parâmetros acústicos dos cantos de anúncio da Perereca-da-caatinga, *Scinax pachycrus* (Miranda-Ribeiro, 1937). Também investigamos se o provável isolamento das populações amostradas em diferentes remanescentes florestais em áreas de alta altitude (Brejos de Altitude) dos estados de Alagoas e Pernambuco pode estar

associado à diferenciação acústica populacional nesta espécie, apontando provável isolamento reprodutivo e auxiliando na elaboração de hipóteses sobre a evolução da diversidade de anuros em áreas de altitude ao norte do rio São Francisco.

OBJETIVOS

Gerais

Investigar a variabilidade em parâmetros acústicos dos cantos de anúncio da perereca-da-caatinga, *Scinax pachycrus* em diferentes níveis de organização (intraindividual, intrapopulacional e interpopulacional) com base em gravações de cantos realizadas em florestas serranas ao norte do rio São Francisco, averiguando propriedades acústicas potencialmente envolvidas na discriminação entre indivíduos.

Específicos

- Avaliar se propriedades acústicas temporais e espectrais do canto de anúncio de *Scinax pachycrus* são dinâmicas ou estáticas, considerando os níveis de variação intraindividual, intrapopulacional e interpopulacional;
- Aferir quais propriedades dos cantos de anúncio de *Scinax pachycrus* são potencialmente úteis para a discriminação entre indivíduos nas populações analisadas;
- Investigar a existência de diferenciação acústica populacional em *Scinax pachycrus*, considerando amostras de cantos de anúncio obtidas em quatro localidades de florestas serranas nos estados de Alagoas e Pernambuco.

2 METODOLOGIA

2.1 ESPÉCIE DE ESTUDO

Scinax pachycrus (Miranda-Ribeiro, 1937), conhecida popularmente como perereca-da-caatinga ou no inglês como “Poção Snouted treefrog”, (Figura 2) é um anuro pertencente à família Hylidae, família que possui hoje 1049 espécies reconhecidas (Frost, 2023). O gênero *Scinax* Wagler, 1830, se distribui desde o leste

do México até a Argentina, contando com cerca de 74 espécies (Frost, 2023). *Scinax pachycrus*, é uma espécie de hábitos noturnos, e ocorre em enclaves úmidos ou matas estacionais no sudoeste da Bahia e em toda a caatinga, com a maior parte da sua distribuição contida na região nordeste. Pode ser encontrada em afloramentos rochosos, bromeliáceas e vegetações próximas a corpos d'água (Peixoto; Arzabe, 2004; Freitas; Silva, 2004).

O adulto de *Scinax pachycrus* é caracterizado pela coloração pardo-amarelada sem manchas, e pela presença de uma faixa preta que se estende a partir da parte posterior das narinas, passando pelos olhos e seguindo em direção à região inguinal. Adultos podem alcançar até 3,5 cm de comprimento rostro-cloacal (Freitas; Silva, 2004). Seu canto de anúncio é descrito como uma única nota pulsada, com 17 a 32 pulsos, e média de duração de 305 ms. A taxa de repetição de cantos é de aproximadamente 37 cantos/min e os cantos têm energia distribuída em duas faixas de frequência bem marcadas: uma em torno de 2 kHz, correspondendo ao 1º harmônico (ou harmônico fundamental), e outra em torno de 4 kHz; correspondendo ao 4º harmônico (Carneiro; Magalhães; Juncá, 2004).

2.2 ÁREA DE ESTUDO

As gravações de *Scinax pachycrus* foram obtidas de novembro de 2020 a junho de 2022 em quatro localidades representativas de florestas serranas ou Brejos de Altitude nos estados de Alagoas e Pernambuco (Figura 1). Tais áreas são enclaves de florestas úmidas ou subúmidas perenifólias ou subperenifólias localizadas nas porções mais altas (entre 600 e 1.100 m) de serras e encostas a barlavento no semiárido nordestino, circundadas por vegetação xerófila de Caatinga nas terras baixas (Andrade-Lima, 1960,1982; Sales *et al.*, 1998). As localidades visitadas encontram-se distribuídas sobre o Planalto da Borborema, com altitudes entre 150 e 1200 m (Tabarelli; Santos, 2004) e com chuvas orográficas podendo alcançar níveis de precipitação de 1.600 mm/ano (Silva *et al.*, 2018). No presente estudo, coletamos dados em dois tipos vegetacionais: Floresta Estacional Semidecidual (Parque Nacional do Catimbau = PNC, Fazenda Vale Tabocas = FVT e Refúgio de Vida Silvestre Morros do Craunã e do Padre = RVSMCP) e Área de Tensão Ecológica (Parque Natural Municipal Professor João Vasconcelos Sobrinho = PNMPJVS)

(Tabarelli; Santos, 2004). Com exceção de Fazenda Vale Tabocas, estas localidades estão atualmente inseridas em unidades de conservação ou em zonas limítrofes, porém com um longo histórico de exploração, devastação e perda de habitat (Coimbra Filho; Câmara, 1996; Theulen, 2004; Ribeiro *et al.*, 2009).

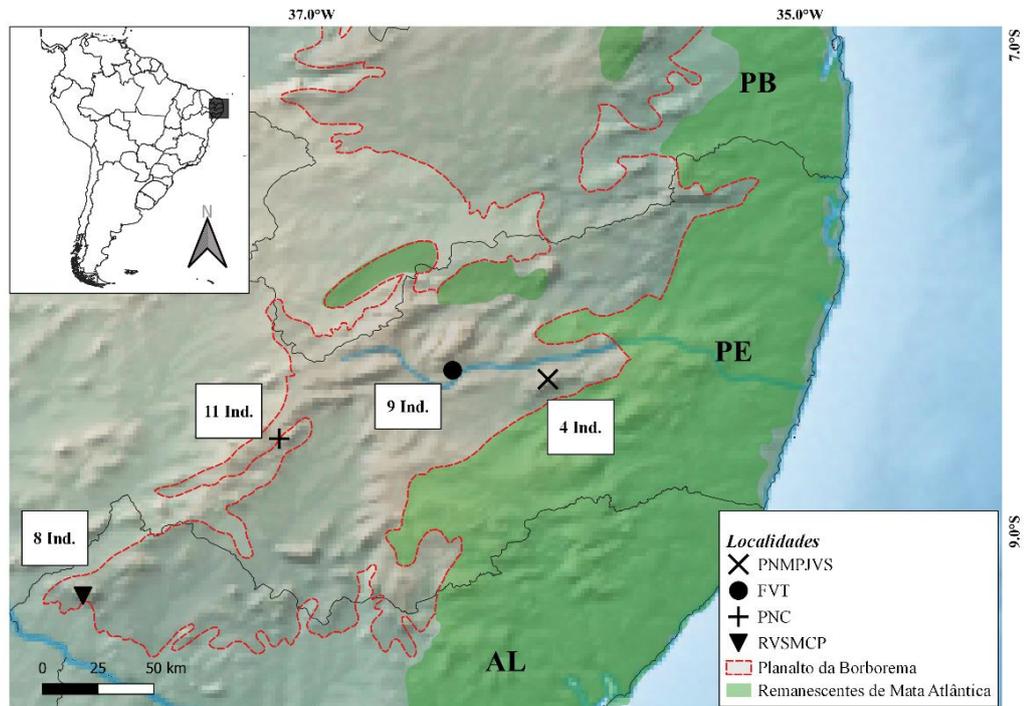


Figura 1. Posição geográfica das localidades de estudo sobre o Planalto da Borborema (tracejado em vermelho). O número de indivíduos gravados/coletados por área é informado dentro das caixas.

2.3 AQUISIÇÃO DE DADOS

Um total de trinta e dois machos de *Scinax pachycrus* foram gravados nas quatro localidades, enquanto emitiam cantos de anúncio (Figura 2). As gravações foram feitas das 17:00 às 23:00 horas em cada localidade. Três tipos de gravadores digitais foram utilizados (Tascam Dr-05x Linear PCM Recorder, Zoom H1n Hand Recorder 120GL e Marantz Professional Solid State Recorder PMD620), acoplados a um microfone direcional AKG D7 posicionado entre 0.5 e 1.0 m de cada indivíduo, sem obstáculos entre o indivíduo vocalizando e o microfone, com cuidados para que haja o mínimo de interferência possível da presença humana no momento da gravação. As configurações de gravação foram as mesmas em todos os gravadores: taxa de amostragem de 44.1 kHz, resolução de 16 bits e formato .WAV. Registramos a temperatura do ar no momento de cada gravação com um termômetro digital. As

gravações variaram entre 30 s e três minutos e continham pelo menos seis cantos de anúncio.

As gravações foram analisadas no *software* Raven Pro 1.6 utilizando as seguintes configurações: formato de janela Blackman, tamanho de janela 10 ms, sobreposição de 80% entre janelas e DFT (Discrete Fourier Transformation) com tamanho de 2.048 amostras. A partir de cada gravação individual foram amostrados em média 10 (6–11) cantos com melhor qualidade de gravação (por exemplo, com menor sobreposição com ruído de fundo ou com cantos de outros indivíduos), a partir dos quais foram medidos os seguintes parâmetros temporais e espectrais: duração da nota (DN), número de pulsos por nota (NP), taxa de emissão de pulsos (pulsos/s) (TP), duração do pulso mais central (DPC), duração do intervalo de silêncio após pulso central (IAP), frequência mais baixa (FB), frequência mais alta (FA), largura de banda (LB), frequência dominante do primeiro harmônico (FD1) e frequência dominante do quarto harmônico (FD4). Medimos os parâmetros espectrais 20 dB abaixo da frequência de pico, para evitar sobreposição com o ruído de fundo (Erdtmann; Amézquita, 2009; Kaefer; Lima, 2012).

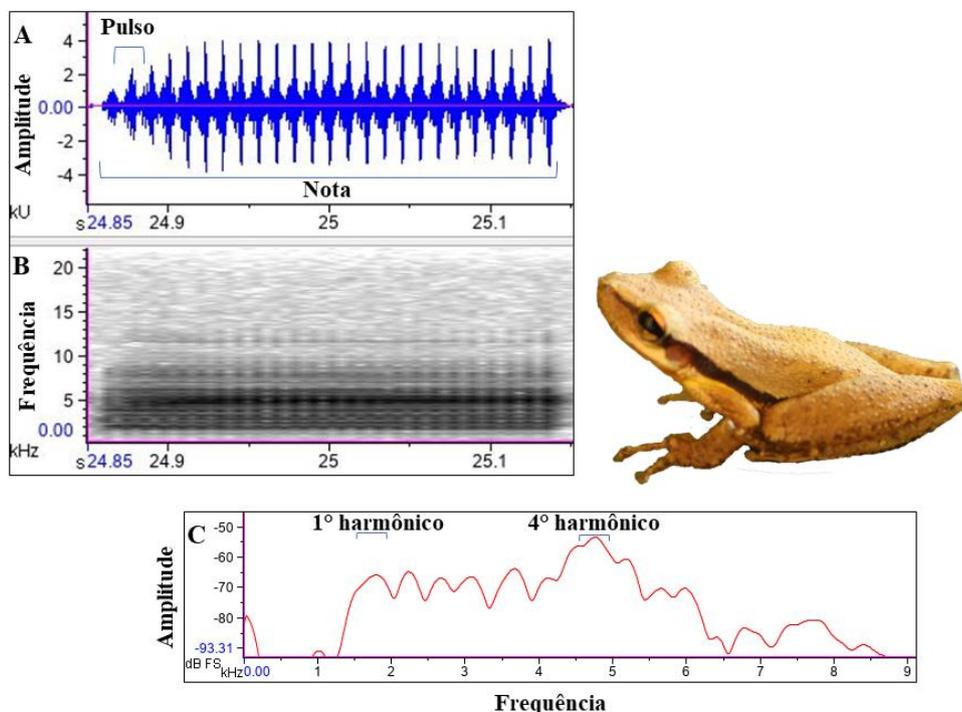


Figura 2. Coloração em vida (foto à direita) e representação gráfica do canto de anúncio de *Scinax pachycrus*: Oscilograma (A), espectrograma (B) e espectro de frequências (C) do canto de anúncio de um macho gravado.

2.4 ANÁLISE DE DADOS

A partir das análises dos cantos, calculamos as médias e os desvios-padrão de cada variável para cada indivíduo e para cada população. Posteriormente, calculamos, a partir das médias e desvios padrão, os coeficientes de variação ($CV = 100\% \times (\text{desvio padrão}/\text{média})$) para cada variável acústica em três níveis: Intraindividual (CV_{wi}), intrapopulacional (CV_{wp}) e interpopulacional (CV_o). O CV_o foi calculado para cada variável acústica a partir das médias e desvios-padrão obtidos para todos os indivíduos dentro das quatro populações, o CV_{wp} foi obtido a partir das médias e desvios-padrão obtidos para os indivíduos em cada população, e o CV_{wi} foi obtido a partir do valor médio do CV_{wp} de todos os indivíduos em uma determinada população (Velásquez *et al.*, 2013). Através do CV intrapopulacional foi possível avaliar o nível de estereotipia das variáveis acústicas, indicado pelo valor do coeficiente de variação. Variáveis com um valor de CV menor que 5% foram consideradas estáticas; aquelas com um valor acima de 12% foram consideradas dinâmicas, e aquelas com valores entre 5% e 12% foram consideradas intermediárias. A classificação baseada em valores de CV_{wi} seguiu a proposta descrita por Gerhardt (1991), amplamente utilizada em estudos sobre a variabilidade em sinais acústicos em anuros. Também calculamos a taxa de variabilidade CV_o/ CV_{wp} , que serve como uma medida direta da magnitude relativa de variabilidade observada entre e dentro das populações (Velásquez *et al.*, 2013).

Foram realizadas regressões lineares simples para testar a relação entre as variáveis acústicas (considerando os valores médios de cada parâmetro por indivíduo) com a temperatura do ar no momento da gravação e o CRC (comprimento rostro-cloacal) do indivíduo gravado. Uma análise de componentes principais (PCA) foi utilizada para reduzir o número de variáveis acústicas correlacionadas, produzindo componentes principais que foram utilizados como variáveis dependentes em um teste baseado em análise de variância (ANOVA), para verificar se existe diferenciação acústica entre as populações, complementada por um teste de pares de Tukey. Diferenças entre as populações também foram testadas considerando cada parâmetro acústico individualmente. O teste de ANOVA foi usado nos parâmetros com distribuição normal e o de Kruskal-Wallis naqueles com distribuição não normal. O teste Mann-Whitney com correção de Bonferroni foi aplicado quando diferenças

significativas gerais foram observadas no teste de Kruskal-Wallis. As análises foram executadas utilizando o software R (R Core Team 2023) e o software PAST Palaeontological Statistics, versão 4.03 (Hammer, 2001).

3 RESULTADOS

Com base nos coeficientes de variação (Tabela 1), os parâmetros acústicos analisados foram classificados como estáticos (50% dos parâmetros) ou intermediários (50% dos parâmetros) no nível intraindividual. No nível intrapopulacional 40% dos parâmetros espectrais foram dinâmicos, 40% foram intermediários e 20% estáticos. Entre os parâmetros temporais, 60% foram dinâmicos, 40% intermediários e não houve parâmetros estáticos. Para o nível interpopulacional, 40% dos parâmetros espectrais foram dinâmicos, 40% foram intermediários e 20% estáticos. Entre os parâmetros temporais, 80% foram dinâmicos, 20% intermediários e não houve parâmetros estáticos (Tabela 1). Os CVs nos níveis intra e interpopulacional foram bastante semelhantes, diferindo apenas em relação ao parâmetro duração do pulso central (DPC), que foi dinâmico apenas para o nível interpopulacional. A razão CV_o/CV_{wp} apresentou maiores valores para os parâmetros FB, LB e DPC, sugerindo que esses parâmetros se distinguem mais, principalmente a frequência baixa, que apresentou maior valor comparado aos outros. Como complementação para estes dados foi visto também a variação dos parâmetros acústicos para cada população (Tabela 2). PNMPJVS foi a população com menor número de gravações registradas, 40 gravações, enquanto para as outras populações houve mais de 100 vocalizações analisadas cada, refletindo em menores coeficientes de variação.

Os testes de regressão linear entre temperatura do ar e parâmetros acústicos detectaram uma relação significativa, porém muito fraca, com a frequência mais baixa do canto ($r^2 = 0.20$; $p = 0.01$). Os testes de regressão entre tamanho corporal e parâmetros acústicos detectaram uma relação negativa, mas fraca ($r^2 = 0.14 - 0.27$; $p < 0.05$), com a duração da nota, frequência mais alta do canto, número de pulsos e duração do pulso (Tabela 3).

Tabela 1. Estatísticas descritivas de propriedades acústicas temporais e espectrais dos cantos de anúncio de *Scinax pachycrus* amostrados em quatro florestas serranas dos estados de Pernambuco e Alagoas, e seus coeficientes de variação intraindividuais (CVwi), intrapopulacionais (CVwp) e interpopulacionais (Cvo). As variáveis são classificadas como estáticas, intermediárias ou dinâmicas de acordo com critérios propostos por Gerhardt (1991).

Parâmetro acústico	Média ± 1 DP	Amplitude	CVwi	CVwp	Cvo	Cvo/CVwp	Tipo CVwi	Tipo CVwp	Tipo Cvo
Duração da nota (s)	0.22 ± 0.037	0.13–0.29	7.37	17.28	17.02	0.99	Intermediário	dinâmico	dinâmico
Frequência baixa (Hz)	1848.98 ± 832.82	1245.64–3680.10	9.67	18.30	45.04	2.46	Intermediário	dinâmico	dinâmico
Frequência alta (Hz)	5606.57 ± 422.6	4154.8–6238.11	4.51	6.81	7.53	1.11	estático	Intermediário	Intermediário
Largura de banda (Hz)	3757.58 ± 906.43	1762.03–4931.75	7.27	15.88	24.12	1.52	Intermediário	dinâmico	dinâmico
Freq. dominante 1° (Hz)	1957.64 ± 121.46	1515.60–2191.41	2.01	5.22	6.2	1.19	estático	Intermediário	Intermediário
Freq. dominante 4° (Hz)	4555.7 ± 214.42	4053.62–4992.62	5.55	4.16	4.7	1.13	Intermediário	estático	estático
N° de pulsos	18.93 ± 3.20	13.43–25.46	7.63	16.23	16.94	1.04	Intermediário	dinâmico	dinâmico
Dur. Pulso central (s)	0.008 ± 0.001	0.005–0.009	3.24	9.85	12.71	1.29	estático	Intermediário	dinâmico
Int. após pulso central (s)	0.003 ± 0.001	0.001–0.006	3.63	24.39	28.37	1.16	estático	dinâmico	dinâmico
Taxa de pulsos (p/s)	86.13 ± 5.93	73.30–106.04	2.06	6.00	6.89	1.15	estático	Intermediário	Intermediário

Tabela 2. Classificação de propriedades acústicas temporais e espectrais, dos cantos de anúncio de *Scinax pachycrus*, em estáticas, intermediárias ou dinâmicas para as quatro florestas serranas dos estados de Pernambuco e Alagoas.

Localidades	Parâmetros estáticos	Parâmetros intermediários	Parâmetros dinâmicos	N° de vocalizações
PNMPJVS	Espectral: FA, FD1, FD4. Temporal: DPC, TP.	Espectral: FB, LB. Temporal: NP, IAP.	Temporal: DN.	40
RVSMCP	Espectral: FD4. Temporal: TP.	Espectral: FA, FD1. Temporal: DPC.	Espectral: FB, LB. Temporal: DN, NP, IAP.	102
FVT	Espectral: FD1, FD4. Temporal: TP.	Espectral: FB, FA, LB.	Temporal: DN, NP, DPC, IAP.	131
PNC	Espectral: FD1.	Espectral: FA, FD4. Temporal: TP.	Espectral: FB, LB. Temporal: DN, NP, DPC, IAP.	143

Tabela 3. Resultados das regressões lineares simples entre temperatura do ar/comprimento rostro-cloacal (CRC) e parâmetros acústicos de 32 indivíduos de quatro populações de *Scinax pachycrus* de Brejos de Altitude.

Parâmetros acústicos	Temperatura (° C)			CRC(mm)		
	r ²	t	p	r ²	t	p
Duração da nota (s)	0.03	1.01	0.31	0.16	-2.41	0.022
Freq. baixa (Hz)	0.2	2.71	0.01	0.004	-0.38	0.7
Freq. alta (Hz)	0.03	1.01	0.31	0.27	-3.4	0.002
Largura de banda (Hz)	0.1	-1.87	0.07	0.03	-1.01	0.31
Freq. dominante 1° (Hz)	0.002	0.27	0.79	0.03	-1.05	0.3
Freq. dominante 4° (Hz)	0.022	-0.81	0.41	0.04	-1.18	0.24
N° de pulsos	0.05	1.23	0.22	0.23	-3.03	0.005
Dur. Pulso central (s)	0.02	-0.79	0.43	0.09	1.73	0.09
Dur. Int. após pulso central (s)	0.001	0.24	0.81	0.06	-1.45	0.15
Taxa de emissão pulsos (p/s)	0.01	0.59	0.55	0.02	-0.91	0.36

A PCA produziu um primeiro componente principal (PC1) resumindo 81% da variação acústica entre as populações (Apêndice A). Nesse componente, os parâmetros acústicos com maior peso foram os parâmetros espectrais frequência baixa (FB) e largura de banda (LB). O segundo componente principal (PC2) explicou 15% da variação acústica restante, e as variáveis frequência baixa (FB), largura de banda (LB) e frequência dominante do 4° harmônico (FD4) tiveram maior peso neste componente (Apêndice B). A PCA indicou a presença de dois agrupamentos ao longo do PC1 (Figura 3), o primeiro agrupamento é composto por indivíduos da população do Refúgio de Vida Silvestre Morros do Craunã e do Padre (RVSMCP), que correspondem a uma área mais interior longitudinalmente dentro do Planalto da Borborema, e por um indivíduo pertencente a população do Parque Nacional do Catimbau (PNC), correspondem às localidades mais ocidentais da área de estudo. O segundo agrupamento apresentou maior número de indivíduos e de populações, englobando todos os indivíduos das populações Fazenda Vale Tabocas (FVT) e do Parque Natural Municipal Professor João Vasconcelos Sobrinho (PNMPJVS), assim como maior parte dos indivíduos da população PNC e um indivíduo de RVSMCP. A ANOVA demonstrou diferença significativa entre as populações ($F = 9.43$; $df = 13.28$; $p < 0.0001$) no PC1. O teste de Tukey (Tabela 4) confirmou que a população RVSMCP se diferencia significativamente das outras populações: FVT ($p < 0.0001$), PNC ($p < 0.0001$) e PNMPJVS ($p = 0.0002$).

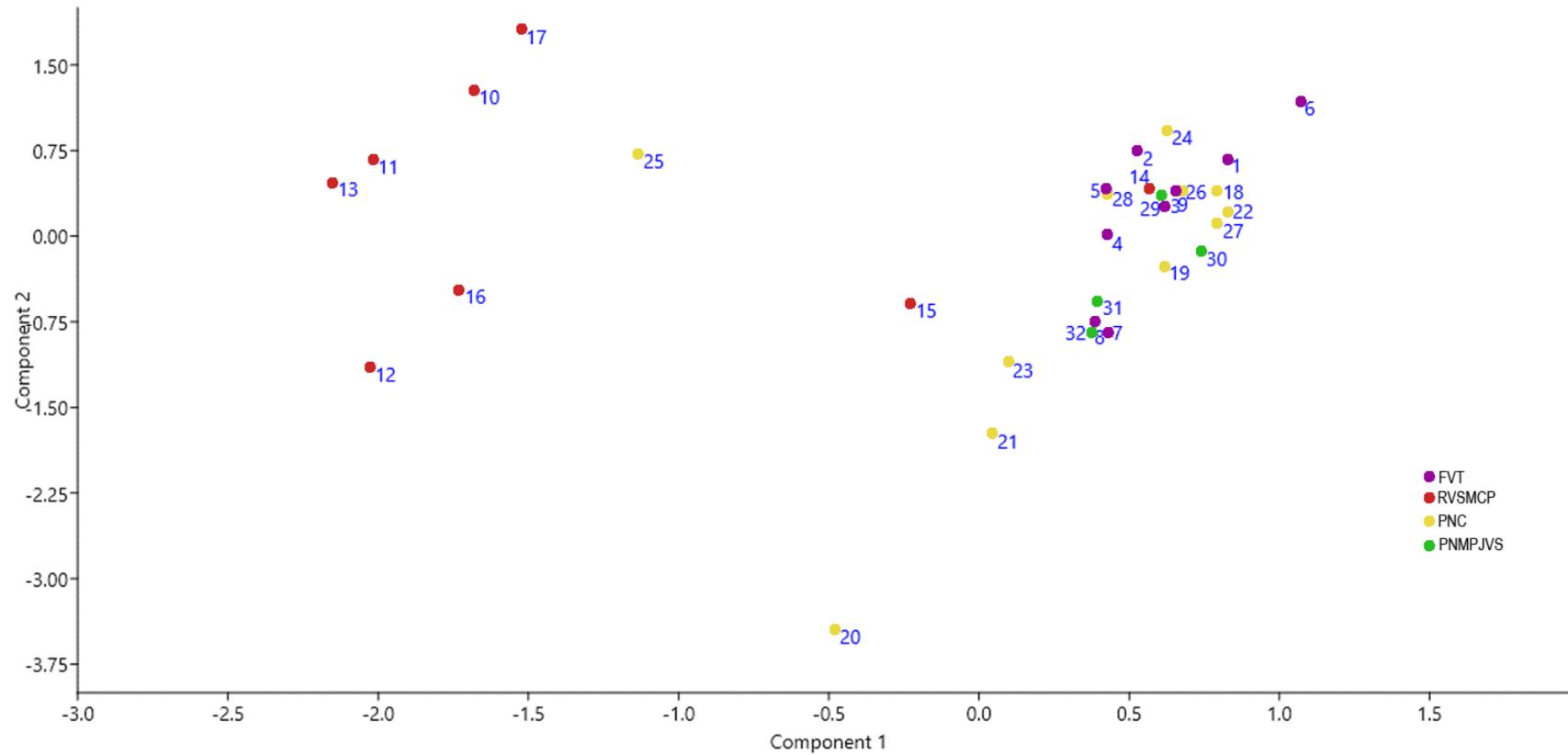


Figura 3: Distribuição de 32 indivíduos de quatro populações de *Scinax pachycrus* ao longo do primeiro e segundo componentes principais gerados a partir dos valores médios individuais de parâmetros acústicos temporais e espectrais cantos de anúncio (PC1 representando 81% da variação acústica e PC2 representando 15% da variação acústica).

Tabela 4. Teste de Tukey para diferenças acústicas entre quatro populações de *Scinax pachycrus* utilizando resultados do primeiro componente principal de uma PCA.

	FVT-PE	RVSMCP-AL	PNC-PE	PNMPJVS-PE
FVT-PE	-	4.27E-06	0.724	0.998
RVSMCP-AL	8.962	-	2.95E-05	0.0002285
PNC-PE	1.48	7.941	-	0.923
PNMPJVS-PE	0.2475	6.869	0.8845	-

Para os testes de normalidade (Shapiro-Wilk) os resultados indicaram que os dados de DN, FD4, NP, DPC, IAP e TP possuíam distribuição normal e os dados de FB, FA, LB e FD1 apresentaram distribuição não normal. A ANOVA não detectou diferenças significativas entre as populações nos parâmetros DN, FD4, NP, DPC, IAP e TP (Tabela 5). Por outro lado, os testes de Kruskal-Wallis detectaram diferença significativa entre as populações nos parâmetros FB e LB.

Os testes par-a-par (Mann-Whitney) com a variável FB demonstraram que a população do RVSMCP foi significativamente diferente das demais: FVT ($P = 0.0020$), PNC ($P = 0.0019$) e PNMPJVS ($P = 0.0242$) (Tabela 6). O mesmo teste com a variável LB demonstrou diferença significativa entre RVSMCP e FVT ($P = 0.0094$) e PNC ($P = 0.0106$), mas não com PNMPJVS ($P = 0.0970$).

Tabela 5. Resultados dos testes estatísticos de ANOVA e Kruskal-Wallis para diferenças entre quatro populações de *Scinax pachycrus* em relação a parâmetros acústicos.

Parâmetros acústicos	Resultados dos testes ANOVA e Kruskal-Wallis
Duração da nota (ms)	$F= 0.42; p = 0.74$
Frequência baixa (Hz)	$H= 16.30; p = 0.001$
Frequência alta (Hz)	$H= 2.82; p = 0.42$
Largura de banda (Hz)	$H= 12.91; p = 0.005$
Frequência dominante 1° (Hz)	$H= 6.84; p = 0.077$
Frequência dominante 4° (Hz)	$F= 0.48; p = 0.70$
N° de pulsos	$F= 0.71; p = 0.55$
Dur. Pulso central (s)	$F= 2.63; p = 0.07$
Int. após pulso central (s)	$F= 1.07; p = 0.38$
Taxa de pulso (p/s)	$F= 0.60; p = 0.62$

Tabela 6. Testes de Mann-Whitney com correção de Bonferroni utilizando os parâmetros acústicos frequência mais baixa e largura de banda de quatro populações de *Scinax pachycrus*.

	FVT-PE	PNC-PE	PNMPJVS-PE
PNC-PE	1.0000/1.0000	-	-
PNMPJVS-PE	1.0000/1.0000	1.0000/1.0000	-
RVSMCP-AL	0.0020/0.0094	0.0019/0.0106	0.0242/0.0970

4 DISCUSSÃO

Em anuros, a comunicação acústica é essencial para mediar interações entre indivíduos, transmitindo informações biológicas a respeito, por exemplo, de sua localização e características físicas (Davies; Halliday, 1978; Márquez *et al.*, 2005). Sinais acústicos, no entanto, são formados por componentes temporais e espectrais, que podem variar de acordo com características do indivíduo (por exemplo, seu tamanho ou características de seu aparato vocal), devido a fatores genéticos (indivíduos proximalmente relacionados geneticamente tendem a ter sinais mais similares) ou em resposta a condições ambientais que afetem o metabolismo do indivíduo (como a temperatura). Estes componentes podem variar de forma independente, em resposta a fatores diferentes, e os padrões de variação parecem ser espécie específicos (Gerhardt; Bee, 2007), o que dificulta a descoberta de padrões gerais de variação, até que a variação dos sinais acústicos de muitas espécies tenha sido avaliada. Neste trabalho, investigamos a variabilidade em parâmetros acústicos temporais e espectrais de *Scinax pachycrus*, visando contribuir para a expansão do conhecimento sobre padrões de variação dos diferentes componentes dos sinais acústicos em anuros.

O valor de um parâmetro acústico em permitir o reconhecimento entre indivíduos ou populações é inferido pela razão entre sua estereotipia e variação (Gerhardt, 1991). Em *S. pachycrus*, os coeficientes de variação em nível intraindividual foram os que resultaram em mais variáveis estáticas. Neste nível, a metade dos parâmetros se mostraram estáticos, ou seja, variam pouco entre os cantos emitidos por um mesmo indivíduo. Mesmo os parâmetros não classificados como estáticos, não foram classificados como dinâmicos, apenas intermediários. Este resultado sugere que, apesar de poder haver variações devido a condições ambientais ou ao contexto comportamental da emissão do canto, a maioria dos parâmetros do canto tende a variar pouco, ao menos no tempo de uma gravação. Em anuros, características estáticas como a duração do pulso e a frequência dominante do canto normalmente estão associadas à morfologia das cordas vocais (López *et al.*, 2020; Gridi-Papp *et al.*, 2006), que varia, por exemplo, de acordo com o tamanho corporal.

Resultados similares onde a duração do pulso e a frequência dominante do canto se mostraram estáticos já foram observados em outras espécies (Morais *et al.*, 2012; Rodriguez *et al.*, 2010; Bee; Gerhardt, 2001).

Diferente do esperado, nem todas as variáveis espectrais se mostraram estáticas em nível intraindividual. A frequência mais baixa, a largura de banda do canto e a frequência dominante do 4º harmônico do canto tiveram coeficientes de variação intermediários neste nível, sugerindo que, apesar de possíveis limitações impostas pela anatomia das cordas vocais, estes parâmetros variam de acordo com outros fatores. O canto de *S. pachycrus* é formado por dois harmônicos com maior energia: o 1º harmônico (ou harmônico fundamental) e o 4º harmônico (Carneiro *et al.*, 2004). Entre cantos de um mesmo indivíduo, a frequência dominante pode variar entre estes harmônicos, alterando a estrutura espectral do canto (obs. pessoal da autora). Alguns anuros são capazes de modular a frequência do canto movendo a energia sonora entre harmônicos, às vezes em resposta a diferentes contextos de emissão (Costa; Toledo, 2013; Toledo *et al.*, 2014). É possível que um mecanismo similar aconteça durante a vocalização de *S. pachycrus*, aumentando a variabilidade intraindividual desses parâmetros. Outra possibilidade é que o sítio de vocalização afete as propriedades de transmissão das vocalizações, uma vez que estruturas da vegetação e do solo e rochas circundantes podem amplificar ou modificar características espectrais dos cantos de anuros (Lardner; bin Lakin, 2002; Muñoz; Halfwerk, 2022).

Em âmbito populacional, foi possível verificar através do nível intrapopulacional, alta variação acústica devido a maior parte dos parâmetros se mostrarem dinâmicos. A manutenção da estaticidade é importante para o reconhecimento entre indivíduos (Bee *et al.*, 2013; Erdtmann; Amézquita, 2009). Neste nível apenas a frequência dominante do 4º harmônico foi estática. Apesar de maior parte dos parâmetros serem indicados como dinâmicos ou intermediários, no nível intrapopulacional, não há indicativo de que os indivíduos de *S. pachycrus* não se reconheçam como da mesma espécie. Pois, são normalmente necessárias muitas diferenças nos cantos de anúncio para impossibilitar o reconhecimento de sinais para o encontro de parceiros reprodutivos (Ryan, 1990). As variações entre indivíduos de uma mesma população são provavelmente apenas diferenças que os caracterizam

individualmente, inclusive a estaticidade acústica no nível intraindividual sugere isso, mas que não necessariamente dificultam a comunicação entre eles.

Entre as diferentes populações de uma mesma espécie o reconhecimento acústico varia mais do que o reconhecimento entre indivíduos de uma mesma população (Röhr *et al.*, 2020), isso pode ocorrer devido a diversos fatores como o afastamento geográfico entre populações e o tempo de separação entre elas. Para o nível interpopulacional, *S. pachycrus* apresentou parâmetros em sua maioria dinâmicos, com apenas a frequência dominante do 4º harmônico estática, sendo este provavelmente o parâmetro que permite o reconhecimento de indivíduos diferentes entre populações de *S. pachycrus*. Possivelmente, este é o mais influenciado no processo de especiação dessa espécie, seguindo um processo de seleção estática.

Os Brejos de Altitude, por serem áreas com frações de floresta tropical perenifólia, dentro de zonas da caatinga, com altitudes superiores a 500 metros (Andrade-Lima, 1960), podem devido a essas condições contribuir para o isolamento geográfico entre as populações. Avaliamos a partir dos resultados obtidos tanto na PCA quanto no teste par-a-par que é possível que a população de RVSMCP- AL se diferencie acusticamente das outras populações devido a sua maior distância geográfica, dentro de um gradiente longitudinal. Diferenciação no tamanho do corpo e propriedades do canto estão presentes mais frequentemente ao comparar populações geograficamente distantes (Gasser; Amézquita; Hödl, 2009). A influência da distância geográfica sobre a diferenciação acústica já foi amplamente reportada (Amézquita *et al.*, 2009; Tsuji-Nishikido *et al.*, 2012; Gomes *et al.*, 2022). As populações estudadas demonstraram diferenças significativas nas variáveis acústicas FB e LB, tal diferença significativa entre populações quanto a FB reforça o que foi indicado pela razão CV_o/CV_{wp} , uma provável ausência de reconhecimento entre indivíduos de populações diferentes – em relação ao parâmetro analisado, devido a diferenciação acumulada entre as populações. A população PNMPJVS mostrou no teste de Mann-Whitney, que, o parâmetro LB não foi significativo quando relacionado a população RVSMCP, se diferenciando das outras populações, isso é provavelmente causado pela baixa amostragem da população PNMPJVS, que havia um quantitativo menor de indivíduos em relação as outras populações.

Abordagens envolvendo dados genéticos dessas populações e/ou experimentos de reconhecimento espécie-específico possibilitariam confirmar a ausência de conectividade (ou menor fluxo gênico) entre a população do RVSMCP e as demais. Do mesmo modo, podendo aferir se a estaticidade da frequência dominante do 4º harmônico – que se manteve estereotipada nas populações estudadas, é suficiente para o reconhecimento espécie-específico, enquanto os demais parâmetros analisados podem atuar na transmissão de outras informações, como por exemplo, de condição corporal, comportamental e provável discriminação individual.

5 CONCLUSÃO

Avaliamos a variabilidade acústica da perereca-da-caatinga, *Scinax pachycrus*, contribuindo com mais informações da história natural da espécie e possibilitando maior entendimento do processo evolutivo de sua comunicação acústica. Nossos achados sugerem alta variabilidade acústica entre indivíduos da mesma população e, principalmente, de populações diferentes especialmente em parâmetros espectrais, porém, elevada estaticidade em cada indivíduo. Assim, há indicativo de reconhecimento individual e possível isolamento social entre populações mais distantes geograficamente. Apesar dessa alta diferenciação acústica entre populações, alguns parâmetros, como a frequência dominante do quarto harmônico, se mantêm altamente similar entre populações. Isso sugere que tal parâmetro é o principal responsável pelo reconhecimento entre indivíduos da espécie, se mantendo estático no processo evolutivo.

REFERÊNCIAS

AMÉZQUITA, A.; LIMA, A. P.; JEHLE, R.; CASTELLANOS, L.; RAMOS, O.; CRAWFORD, A. J.; GASSER, H.; HÖDL, W. Calls, colours, shape, and genes: a multi-trait approach to the study of geographic variation in the amazonian frog *Allobates femoralis*. **Biological Journal of The Linnean Society**, [S.L.], v. 98, n. 4, p. 826-838, 2009. Oxford University Press (OUP).

ANDRADE-LIMA, D. 1960. **Estudos fitogeográficos de Pernambuco. Arquivo do Instituto de Pesquisa Agrônômica**. Vol (5). Secretaria da Agricultura, Indústria e Comércio, Pernambuco, Brasil, pp. 305—341.

ANDRADE-LIMA, D. 1982. **Present day forest refuges in Northeastern Brazil**. Pp. 245—254, in: Prance, G.T. (ed.). *Biological Diversification in the Tropics*. Columbia University Press, New York.

BEE, Mark A.; COOK, Jenna M.; LOVE, Elliot K.; O'BRYAN, Lisa R.; PETTITT, Beth A.; SCHRODE, Katrina; VÉLEZ, Alejandro. 2010. Assessing Acoustic Signal Variability and the Potential for Sexual Selection and Social Recognition in Boreal Chorus Frogs (*Pseudacris maculata*). **Ethology**, [S.L.], v. 116, n. 6, p. 564-576. Wiley.

BEE, Mark A.; GERHARDT, H. Carl. 2001. Neighbour–stranger discrimination by territorial male bullfrogs (*Rana catesbeiana*): i. acoustic basis. **Animal Behaviour**, [S.L.], v. 62, n. 6, p. 1129-1140. Elsevier BV.

BEE, Mark A.; KOZICH, Carol E.; BLACKWELL, Kellee J.; GERHARDT, H. Carl. Individual Variation in Advertisement Calls of Territorial Male Green Frogs, *Rana clamitans*: implications for individual discrimination. **Ethology**, [S.L.], v. 107, n. 1, p. 65-84, jan. 2001.

BEE, Mark A.; SUYESH, Robin; BIJU, S. D. 2013. Vocal Behavior of the Ponmudi Bush Frog (*Raorchestes graminirupes*): Repertoire and Individual Variation. **Herpetologica**, 69(1):22-35. BioOne.

BRADBURY, J.W.; VEHRENCAMP, S.L. 1998. **Principles of Animal Communication**. Sinauer Associates, Inc., Sunderland, MA.

CARNEIRO, M.C. L.; MAGALHÃES, P.S.; JUNCÁ, F. A. **Descrição do Girino e Vocalização de *Scinax pachycrus* (Miranda-Ribeiro, 1937) (Amphibia, Anura, Hylidae)**. Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro, v. 62, n. 3, p. 241-246, 2004.

COIMBRA FILHO, A.F., CÂMARA, I.G. 1996. **Os limites originais do bioma Mata Atlântica na região Nordeste do Brasil**. Fundação Brasileira para a Conservação da Natureza (FBCN), Rio de Janeiro, 86pp.

COSTA, Thais R. N.; TOLEDO, Luís Felipe. *Physalaemus spiniger* (Anura: Leiuperinae). **Journal Of Herpetology**, [S.L.], v. 47, n. 4, p. 530-538, dez. 2013. Society for the Study of Amphibians and Reptiles.

DAVIES, N. B.; HALLIDAY, T. R. Deep croaks and fighting assessment in toads. **Nature**, [S.L.], v. 274, n. 5672, p. 683-685, ago. 1978. Springer Science and Business Media LLC.

ERDTMANN, L., AMÉZQUITA, A. Differential evolution of advertisement call traits in dart-poison frogs (Anura: Dendrobatidae). **Ethology**, 115(9): 801–811. 2009.

FORTI, Lucas R.; COSTA, William P.; MARTINS, Lucas B.; NUNES-DE-ALMEIDA, Carlos H. L.; TOLEDO, Luís Felipe. Advertisement call and genetic structure conservatism: good news for an endangered neotropical frog. **Peerj**, [S.L.], v. 4, p. 1-17, 10 maio 2016.

FREITAS, M.A; SILVA, T.F.S. **Anfíbios na Bahia, Um guia de identificação**. Camaçari: Malha-de-Sapo-Publicações, 2004. 60 p.

FROST, Darrel R. 2023. **Amphibian Species of the World: An Online Reference**. Version 6.2 (03/08/2023). Electronic Database accessible

at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA. doi.org/10.5531/db.vz.0001

GASSER, Herbert; AMÉZQUITA, Adolfo; HÖDL, Walter. Who is Calling? Intraspecific Call Variation in the Aromobatid Frog *Allobates femoralis*. **Ethology**, [S.L.], v. 115, n. 6, p. 596-607. 2009. Wiley.

GERHARDT, H.C. 1991. Female mate choice in treefrogs: Static and dynamic acoustic criteria. **Animal Behaviour**, 42: 615–635.

GERHARDT, H. Carl; BEE, Mark A. Recognition and Localization of Acoustic Signals. **Hearing And Sound Communication in Amphibians**, [S.L.], p. 113-146, 2007. Springer New York.

GERHARDT, H. C., Huber, F. 2002. **Acoustic communication in insects and anurans: Common problems and diverse solutions**. University of Chicago Press, Chicago, Illinois.

GINGRAS, B.; BOECKLE, M.; HERBST, C. T.; FITCH, W. T. Call acoustics reflect body size across four clades of anurans. **Journal Of Zoology**, [S.L.], v. 289, n. 2, p. 143-150, 2012. Wiley.

GOMES, Lidiane; RÖHR, David Lucas; SOUSA-LIMA, Renata S.; GARDA, Adrian Antonio; JUNCÁ, Flora Acuña. Environmental factors influencing call propagation in *Pithecopus nordestinus*: testing the acoustic adaptation hypothesis. **Bioacoustics**, [S.L.], v. 31, n. 6, p. 696-709, 3 mar. 2022. Informa UK Limited.

GOYES VALLEJOS, J.; ULMAR GRAFE, T.; AHMAD SAH, H.H. *et al.* Calling behavior of males and females of a Bornean frog with male parental care and possible sex-role reversal. **Behav Ecol Sociobiol** 71, 95. 2017.

GRIDI-PAPP, M.; RAND, A. S.; RYAN, M. J. Complex call production in the túngara frog. **Nature**, [S.L.], v. 441, n. 7089, p. 38-38, 2006. Springer Science and Business Media LLC.

GUERRA, V.; LLUSIA, D.; GAMBALE, P.G.; MORAIS, A.R.; MÁRQUEZ, R.; BASTOS, R.P. The advertisement calls of Brazilian anurans: Historical review, current knowledge, and future directions. **PLoS ONE** 13(1), e0191691. 2018.

HAMMER, Øyvind; HARPER, David A.T.; RYAN, Paul D.. PAST: Paleontological Statistics Software Package for education and data analysis. **Palaeontologia Electronica**, v. 4, n. 1, 9pp, 2001.

HEYER, W. Ronald; REID, Yana R. Does advertisement call variation coincide with genetic variation in the genetically diverse frog taxon currently known as *Leptodactylus fuscus* (Amphibia: leptodactylidae)? **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, [S.L.], v. 75, n. 1, p. 39-54, mar. 2003. FapUNIFESP (SciELO).

HOWARD, R.D.; YOUNG, J.R. Individual variation in male vocal traits and female mating preferences in *Bufo americanus*. **Animal Behaviour**, [S.L.], v. 55, n. 5, p. 1165-1179, maio 1998.

KAEFER, I. L.; LIMA, A.P. Sexual signals of the Amazonian frog *Allobates paleovarzensis*: geographic variation and stereotypy of acoustic traits. **Behaviour**, 149(1): 15-33. 2012.

KAEFER, I.L., TSUJI-NISHIKIDO, B.M., MOTA, E.P., FARIAS, I.P.; LIMA, A.P. The Early Stages of Speciation in Amazonian Forest Frogs: Phenotypic Conservatism Despite Strong Genetic Structure. **Evolutionary Biology** 40, 228–245. 2013.

KAEFER, I. L.; TSUJI-NISHIKIDO, B. M.; LIMA, A. P. Beyond the river: underlying determinants of population acoustic signal variability in amazonian direct-developing *allobates* (anura). **Acta Ethologica**, [S.L.], v. 15, n. 2, p. 187-194, 26 abr. 2012. Springer Science and Business Media LLC.

KÖHLER, Jörn; JANSEN, Martin; RODRÍGUEZ, Ariel; KOK, Philippe J. R.; TOLEDO, Luís Felipe; EMMRICH, Mike; GLAW, Frank; HADDAD, Célio F. B.; RÖDEL, Mark-Oliver; VENCES, Miguel. The use of bioacoustics in anuran taxonomy: theory, terminology, methods and recommendations for best practice. **Zootaxa**, [S.L.], v. 4251, n. 1, p. 1-124, 11 abr. 2017. Magnolia Press.

LARDNER, Björn; LAKIM, Maklarin Bin. Tree-hole frogs exploit resonance effects. **Nature**, [S.L.], v. 420, n. 6915, p. 475-475, dez. 2002. Springer Science and Business Media LLC.

LÓPEZ, Carlos; QUISPE, Maricel; VILLALÓN, Aldo; CONCHA, Miguel L; PENNA, Mario; A VELÁSQUEZ, Nelson. Geographic variation in the laryngeal morphology of a widely distributed South American anuran: behavioural and evolutionary implications. **Zoological Journal of The Linnean Society**, [S.L.], v. 190, n. 1, p. 140-148, 7 jan. 2020. Oxford University Press (OUP).

MÁRQUEZ, R.; MOREIRA, C.; AMARAL, J.P.s. do; PARGANA, J.M.; CRESPO, E.G. Sound pressure level of advertisement calls of *Hyla meridionalis* and *Hyla arborea*. **Amphibia-Reptilia**, [S.L.], v. 26, n. 3, p. 391-395, 2005. Brill.

MIRANDA-RIBEIRO, A. (1937) **Sobre uma coleção de vertebrados do nordeste brasileiro. Primeira parte: peixes e batrachios**. O Campo. Rio de Janeiro 1937: 54–56.

MORAIS, A. R.; BATISTA, V. G.; GAMBALE, P. G.; SIGNORELLI, L.; BASTOS, R. P. Acoustic communication in a Neotropical frog (*Dendropsophus minutus*): vocal repertoire, variability and individual discrimination. **Herpetological Journal**. v. 22, p. 249-257, 2012.

MUÑOZ, M. I.; HALFWERK, W. Amplification of frog calls by reflective leaf substrates: implications for terrestrial and arboreal species. **Bioacoustics**, [S.L.], v. 31, n. 4, p. 490-503, 20 set. 2021. Informa UK Limited.

PANHUIS, T. M.; BUTLIN, R.; ZUK, M.; TREGENZA, T. Trends in Ecology & Evolution. v. 16, n. 7, p. 364-371, 2001.

PEIXOTO, Oswaldo Luiz; ARZABE, Cristina. *Scinax pachycrus*. **IUCN Red List of Threatened Species**, [S.L.], p. 1-2, 30 abr. 2004. IUCN. <http://dx.doi.org/10.2305/iucn.uk.2004.rlts.t55984a11391526.en>.

R Core Team (2023). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.

RIBEIRO, M.C., METZGER J.P., MARTENSEN, A.C., PONZONI, F.J., HIROTA, M.M. The Brazilian Atlantic Forest: How much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. **Biological Conservation**, 142: 1141–1153. 2009.

RODRIGUEZ, Ariel; LANUEZ, Daril de; ALONSO, Roberto. Intraspecific Variation in the Advertisement Call of the Cloud-Forest Frog *Eleutherodactylus glamyrus* (Anura: Eleutherodactylidae). **Journal Of Herpetology**, [s. l], v. 44, n. 3, p. 457-466, 2010.

RÖHR, David Lucas; CAMURUGI, Felipe; MARTINEZ, Pablo Ariel; SOUSA-LIMA, Renata S.; JUNCÁ, Flora Acuña; GARDA, Adrian Antonio. Habitat-dependent advertisement call variation in the monkey frog *Phyllomedusa nordestina*. **Ethology**, [S.L.], v. 126, n. 6, p. 651-659, 4 mar. 2020. Wiley.

RYAN, Michael J.; COCROFT, Reginald B.; WILCZYNSKI, Walter. The role of environmental selection in intraspecific divergence of mate recognition signals in the cricket frog, *Acris crepitans*. **Evolution**, [S.L.], v. 44, n. 7, p. 1869-1872, nov. 1990. Wiley.

SALES, M.F., MAYO, S.J., RODAL, M.J. **Plantas vasculares das florestas serranas de Pernambuco: um checklist da flora ameaçada dos brejos de altitude,**

Pernambuco, Brasil. Imprensa Universitária, Universidade Federal Rural de Pernambuco. 1998.

SANTOS, A.M.M., TABARELLI, M. 2004. **Integridade, esforço e diretrizes para conservação dos Brejos de Altitude da Paraíba e Pernambuco**. In: Pôrto, K.C., Cabral, J.J.P., Tabarelli, M. (eds). Brejos de Altitude em Pernambuco e Paraíba: História natural, ecologia e conservação. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, pp. 309–318.

SILVA, J.M.C., LEAL, I.R.; TABARELLI, M. **Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America**. 2018. Springer.

TABARELLI, M., SANTOS, A.M.M. 2004. **Uma breve descrição sobre a história natural dos Brejos Nordestinos**. In: Pôrto, K.C., Cabral, J.J.P., Tabarelli, M. (eds). Brejos de Altitude em Pernambuco e Paraíba: História natural, ecologia e conservação. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, pp. 99–110.

THEULEN, V. 2004. **Conservação dos Brejos de Altitude no estado de Pernambuco**. In: Pôrto, K.C., Cabral, J.J.P., Tabarelli, M (eds.). Brejos de Altitude em Pernambuco e Paraíba história natural, ecologia e conservação. Brasília: Ministério do Meio Ambiente, pp. 299–302.

TOLEDO, Luís F.; MARTINS, Itamar A.; BRUSCHI, Daniel P.; PASSOS, Michel A.; ALEXANDRE, César; HADDAD, Célio F. B. The anuran calling repertoire in the light of social context. **Acta Ethologica**, [S.L.], v. 18, n. 2, p. 87-99, 4 jun. 2014. Springer Science and Business Media LLC.

TSUJI-NISHIKIDO, Bruno M.; KAEFER, Igor L.; FREITAS, Francisco C. de; MENIN, Marcelo; LIMA, Albertina P. Significant but not diagnostic: Differentiation through morphology and calls in the Amazonian frogs *Allobates nidicola* and *A. masniger*. **Herpetological Journal**, [s. l], v. 22, p. 105-114, 2012.

VELÁSQUEZ, Nelson A.; MARAMBIO, Jesus; BRUNETTI, Enzo; MÉNDEZ, Marco A.; VÁSQUEZ, Rodrigo A.; PENNA, Mario. Bioacoustic and genetic divergence in a frog with a wide geographical distribution. **Biological Journal of The Linnean Society**, [S.L.], v. 110, n. 1, p. 142-155, 14 jun. 2013. Oxford University Press (OUP).

WAGLER, J. 1830. Natürliches System der Amphibien, mit vorangehender Classification der Säugthiere und Vogel. **Ein Beitrag zur vergleichenden Zoologie**. München, Stuttgart and Tübingen: J. G. Cotta.

WELLS, K. D. The social behavior of anuran amphibians. **Anim. Behav.** 25, 666—693. 1977.

WEST-EBERHARD, Mary Jane. Sexual Selection, Social Competition, and Speciation. **The Quarterly Review of Biology**, [s. /], v. 58, n. 2, p. 155-183, 1983.

APÊNDICE A – Resultados da PCA com as porcentagens de variação explicadas por cada componente na análise de componentes principais (PCA).

PC	% de variação explicada
1	81.89
2	15.66
3	1.81
4	0.65
5	0.0018
6	0.0005
7	6E-10
8	9E-11
9	1E-11
10	3E-12

APÊNDICE B – Pesos dos PC1 e PC2 da análise de componentes principais (PCA) para os parâmetros acústicos da *S. pachycrus* para quatro localidades, indicado em negrito àqueles que se destacam em cada componente.

Parâmetros acústicos	PC1	PC2
Duração da nota - DN (s)	-2.45E-06	7.88E-06
Freq. baixa - FB (Hz)	-0.66521	0.45732
Freq. alta - FA (Hz)	0.077285	0.78381
Largura de banda - LB (Hz)	0.74249	0.32649
Freq. dominante 1°- FD1 (Hz)	-0.012385	0.079119
Freq. dominante 4°- FD4 (Hz)	0.0087302	0.25224
N° de pulsos - NP	-0.000246	0.0012952
Dur. Pulso central - DPC (s)	-2.83E-07	-6.14E-07
Dur. Int. após pulso central - IAP (s)	1.74E-07	5.85E-07
Taxa de emissão pulsos - TP (p/s)	-0.000101	0.0026715