



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia

Programa de Pós-Graduação em Ecologia



Como a densidade de árvores e o tamanho do corpo influenciam os sinais acústicos no gênero *Allobates*?

Marina Vieira da Rosa

Manaus – Amazonas

Outubro, 2021

MARINA VIEIRA DA ROSA

Como a densidade de árvores e o tamanho do corpo influenciam os sinais acústicos no gênero *Allobates*?

Orientadora: **Dra. Albertina Pimentel Lima**

Coorientador: **Dr. Miquéias Ferrão da Silva Junior**

Dissertação apresentada ao Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia (Ecologia).

Manaus – Amazonas

Outubro, 2021

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA

**ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE
MESTRADO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM ECOLOGIA DO INSTITUTO NACIONAL DE
PESQUISAS DA AMAZÔNIA.**

Aos 23 dias do mês de Novembro do ano de 2021, às 14h00min, por videoconferência. Reuniu-se a Comissão Examinadora de Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: a Dra. **Camila Chiamenti Both**, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, a Dra. **Valentina Zaffaroni Caorsi**, da Università degli Studi di Trento - Fondazione Edmund Mach, e o Dr. **Jeffrey Podos**, da Universidade de Massachusetts - UMass, tendo como suplentes o Dr. Pedro Aurélio Costa Lima Pequeno, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA e o Dr. Mario Cohn-Haft, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia - INPA, sob a presidência da orientadora, a fim de proceder a arguição pública do trabalho de **DISSERTAÇÃO DE MESTRADO** da **MARINA VIEIRA DA ROSA**, intitulado: **"COMO A DENSIDADE DE ÁRVORES E O TAMANHO DO CORPO INFLUENCIAM OS SINAIS ACÚSTICOS DO GÊNERO ALLOBATES?"**, orientada pela Dra. Albertina Pimentel Lima, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA e Co-orientada pelo Dr. Miquéias Ferrão da Silva Junior.

Após a exposição, o discente foi arguido oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final:

APROVADO (A) REPROVADO (A)
 POR UNANIMIDADE POR MAIORIA

Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.

DRA. CAMILA CHIAMENTI BOTH

Camila C. Both

DR. JEFFREY PODOS

J. Podos

DR. PEDRO AURÉLIO COSTA LIMA PEQUENO

Pedro Aurélio Costa Lima Pequeno

DR. MARIO COHN-HAFT

DRA. VALENTINA ZAFFARONI CAORSI

[Assinatura]
(Coordenação PPG-ECO/INPA)

Ficha Catalográfica

©SEDAB/INPA - Ficha Catalográfica Automática gerada com dados fornecidos pelo(a) autor(a)
Bibliotecário responsável: Jorge Luiz Cativo Alauzo - CRB11/908

R788c da Rosa, Marina Vieira
Como a densidade de árvores e o tamanho do corpo influenciam os sinais acústicos no gênero *Allobates*? / Marina Vieira da Rosa; orientadora Albertina Pimentel Lima; coorientador Miquéias Ferrão. -- Manaus:[s.l], 2021.
33 f.

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós Graduação em Ecologia) -- Coordenação do Programa de Pós-Graduação, INPA, 2021.

1. Bioacústica. 2. Filogenia. 3. Floresta Ombrófila. 4. Amazônia. 5. *Allobates*. I. Lima, Albertina Pimentel, orient. II. Ferrão, Miquéias, coorient. III. Título.

CDD: 598

SINOPSE

Investigou-se sinais acústicos no gênero *Allobates* (Anura, Aromobatidae) da Amazônia, que ocorre em dois tipos florestais distintos. A hipótese da adaptação acústica foi testada, bem como a influência do tamanho do corpo e o possível efeito filogenético nos sinais acústicos de 21 espécies.

Palavras-chave: bioacústica, filogenia, floresta ombrófila, Amazônia, *Allobates*

AGRADECIMENTOS

Ao INPA e ao PPG Ecologia – INPA pelas vivências ao longo do período do mestrado. Agradeço aos professores com quem tive aula e, de alguma forma, me acompanharam nesta trajetória. Agradeço também a todos funcionários do INPA com quem convivi nesse período, em especial a Paulinha. Agradeço à minha orientadora Albertina por me guiar nessa pesquisa, sempre disponível para me ajudar e me auxiliar com as minhas dúvidas, além de ser um grande exemplo de mulher pesquisadora. Agradeço também ao meu coorientador, Miquéias, por ter me auxiliado tanto nesse período. Me sinto privilegiada de ter tido a oportunidade de ser orientada por vocês. Agradeço também à banca avaliadora desse trabalho por todas as contribuições.

Meu muito obrigada à minha família, minha mãe Rita e meu pai Sergio, por todo suporte, amor e carinho, sempre. Agradeço ao meu irmão, Tiago, pela companhia de sempre, e por me aguentar, mesmo sendo tão diferente (e tão parecido). Agradeço à minha cunhada, Kaka, por ter entrado na nossa família nesses últimos anos, pela companhia e conversas nesse tempo. Agradeço ao João Pedro, meu parceiro e melhor amigo, por ser minha companhia diária, por todo amor e carinho, pelas leituras na dissertação e diversos debates sobre todo e qualquer assunto. Aos cinco: amo vocês com todo o coração!

Aos meus avós Diva e João, Deja e Zeca, aos meus dindos Cláudia e Reni, a todos os tios e tias, primos e primas, em especial aos meus afilhados Lana e Otávio, amores da minha vida, e aos primos mais novos, Heitor e Rafa: agradeço profundamente o apoio e o amor desde sempre. Nada teria valido a pena, se, a cada retorno, não pudesse encontrar vocês para contar minhas histórias. Amo vocês!

A todos os amigos do sul que me acompanharam à distância: agradeço aos meus irmãos de vida Carol Culau, Dener e Deivid, ao meu cunhadinho científico, Leo, por serem tão presentes na distância, e, também, ao Patrick, que nos uniu, e me orientou durante meu período de IC, e me incentivou a fazer mestrado. Aos amigos “da onda”, Julinha, Kassi, Marco e Will, agradeço por todos esses anos de amizade. Agradeço, também, aos amigos de POA de longa data, Celi e Dani, e aos amigos da graduação: Barbara, Rafa, Carla e Vini. À família do João, em especial, seus pais, Adri e Jurandir, à dona Maria e ao Richard, por me acolherem com tanto carinho nessa família linda. Meu muito obrigada a todos por tudo, vocês moram no meu coração.

Morar em Manaus nesse período de mestrado foi desafiador, mas maravilhoso. Por isso, agradeço muito à todas as pessoas que fizeram parte da minha rotina. Agradeço a todos os colegas e amigos que encontrei por lá, em especial a Carol, com quem dividi o apê 7, a rotina e diversos desabafos durante esse período. Amiga, não teria sido tão feliz em Manaus sem tua companhia todos os dias. Agradeço muito a Jessica por tudo que vivemos (e sofremos juntas) em Manaus e no mestrado: só a gente sabe o tanto que aproveitamos tudo isso. Amo vocês! A Laurinha, Manuel, Anaís e Pedro Paulo por todas as ajudas no R, conversas e diversão, e a toda a turma do Mestrado-Eco 2019 pela companhia. Muito obrigada por tudo! Espero que logo possamos nos reencontrar.

Ao CNPq e a CAPES pela bolsa de pesquisa, ao CNPq pelo financiamento das coletas de dados através de projetos concedidos a A.P. Lima (números 401327/2012-4, 446208/2015-9, 401120/2016-3).

RESUMO

A vegetação reflete e absorve as ondas sonoras, criando ruídos na comunicação acústica entre os animais que usam o som para se comunicar. A densidade da vegetação pode modificar a turbulência do ar, portanto, tem sido considerada um fator importante na adaptação dos cantos de anúncio. O som é fundamental para reprodução de anuros por essa razão é importante que seja recebido pelo receptor de forma acurada. A hipótese da adaptação acústica (HAA) prevê que sinais acústicos emitidos em locais com maior quantidade de vegetação seriam adaptados para melhorar a transmissão do sinal, diferenciando suas características espectrais e temporais para tentar aumentar a efetividade do sinal. Além disso, o tamanho do corpo também pode influenciar características dos sinais acústicos. *Allobates* é um gênero de anuros de serrapilheira, com espécies que ocorrem em diferentes tipos florestais, que variam em relação à densidade arbórea. Aqui usamos duas classes de floresta ombrófila (densa e aberta) como um proxy para densidade de vegetação, visto que os 10 locais estudados caíram nessas duas classes de floresta. Testamos a hipótese que a densidade de árvores tem um efeito na evolução dos parâmetros acústicos de 21 espécies de *Allobates* da Amazônia. Analisamos 238 cantos de anúncio de 21 espécies de *Allobates* de 10 locais na Amazônia. Comparamos as características temporais entre florestas ombrófilas densas e abertas através de teste t. Utilizamos regressões lineares simples para testar a influência do tamanho nas variáveis de canto. Através de PGLS testamos o efeito do ambiente nos sinais acústicos sem o efeito filogenético. O tamanho do corpo teve correlação de 75% com a frequência dominante, mas ao contrário do esperado pela HAA, não encontramos um efeito da densidade de árvores na evolução da frequência dominante. No entanto, a frequência dominante das espécies de florestas mais densas é mais baixa quando em comparação a florestas mais abertas. Não encontramos evidência para o efeito da densidade de árvores na evolução da taxa de repetição da nota, mas sim do tamanho do corpo, relação ainda não registrada para anuros. Nossos resultados mostram uma forte evidência do efeito da densidade de árvores na duração da nota. A duração da nota das espécies foi menor em florestas mais densas do que em florestas mais abertas, ao contrário do esperado pela HAA. Além disso, registramos uma inédita relação quadrática entre o tamanho das espécies e a duração da nota em florestas mais densas, possivelmente, devido ao ambiente. Demostramos que o tamanho do corpo influencia tanto características espectrais quanto temporais do canto, e que diferenças sutis entre florestas tropicais conduzem diversificação em um parâmetro temporal do sinal acústico em um gênero de anuro amazônico. Sugerimos que mais estudos devem ser conduzidos para que a influência sutil do ambiente e do tamanho do corpo nos sinais acústicos sejam melhor entendidos

ABSTRACT

Vegetation reflects and absorbs sound waves, creating noise in the acoustic communication between animals that use sound to communicate. Vegetation density can modify air turbulence and has been considered a crucial factor in advertisement calls adaptation. Sound is critical for anuran reproduction, and that is why it must be accurately received by the receiver. The Acoustic Adaptation Hypothesis (AAH) predicts that acoustic signals that are emitted in places with a greater amount of vegetation would be adapted to improve signal transmission, differentiating its spectral and temporal characteristics to try to increase the signal's effectiveness. In addition, body size can also influence acoustic characteristics. *Allobates* is a genus of leaf litter frogs, with species that occur in different forest types, which vary in tree density. Here we used two classes of rainforest (dense and open) as a proxy for vegetation density, as the 10 sites studied fell into these two forest categories. We evaluate the hypothesis that tree density affects the evolution of acoustic parameters of 21 species of *Allobates* from Amazonia. We analyzed 238 advertisement calls of 21 *Allobates* species from 10 locations on Amazon. Furthermore, we compared the temporal and spectral characteristics between dense and open rainforests using a t-test. We used simple linear regressions to test the influence of size on advertisement calls. Through PGLS we evaluated the effect of the environment on acoustic signals without the phylogenetic effect. Body size correlated 75% with dominant frequency, but contrary to what was expected by the HAA, we did not find an effect of tree density on the evolution of dominant frequency. However, the dominant frequency of denser forest species is lower when compared to more open forests. We found no evidence for the effect of tree density on the evolution of note rate, but rather on body size, a relationship not yet registered for anurans. Our results show strong evidence of the effect of tree density on note duration. Note duration was shorter in denser forests than in open forests, contrary to what was expected by the HAA. In addition, we recorded an unprecedented quadratic relationship between species size and note duration in denser forests, possibly due to the environment. We demonstrate that body size influences both spectral and temporal characteristics of call, and that subtle differences between tropical forests lead to diversification in acoustic parameters in an Amazonian anuran genus. We suggest that further studies should be conducted so that the subtle influence of the environment and body size on acoustic signals is better understood.

Sumário

| | |
|--|----|
| RESUMO | 3 |
| ABSTRACT | 4 |
| 1. Introdução | 8 |
| 2. Material e Métodos | 10 |
| 3. Resultados | 17 |
| 4. Discussão | 22 |
| 5. Referências Bibliográficas | 26 |

Lista de Figuras

- Figura 1.** Mapa com os locais de estudo e sua respectiva classificação florestal, de acordo com IBGE (2010). Os locais 1 – 4 estão localizados em Floresta Ombrófila Aberta, enquanto os locais 5 – 10 estão localizados em Floresta Ombrófila Aberta. 11
- Figura 2.** Tipos de estrutura de cantos em *Allobates*. (A) Cantos compostos por uma única nota emitida continuamente (*A. caeruleodactylus*, Borba). (B) Cantos compostos por grupos de duas ou mais notas (*A. nunciatus*, Trairão). 14
- Figura 3** Árvore de máxima credibilidade do clado resumindo a relação de 21 espécies de *Allobates* utilizada como input no PGLS. As cores dos quadrados indicam a categoria florestal. Localidades: AUT, Autazes; BOC, Boca do Acre; BOR, Borba; BRN, Brasil Novo; MAD, margem leste do alto rio Madeira; MAE, margem oeste do alto rio Madeira; PNA, Parque Nacional da Amazônia; RBR, Rio Branco; TRA, Trairão; TRE, Treviso. 18
- Figura 4.** Gráficos mostrando a relação entre a dissimilaridade das variáveis acústicas relacionadas a distância geográfica entre cada par de espécies. Os pontos representam a distância par-a-par entre as espécies. 19
- Figura 5.** Relação do tamanho do corpo (CRU) com variáveis acústicas do canto de anúncio de 21 espécies de *Allobates* na Amazônia brasileira. 20
- Figura 6.** Relação de duas classes de floresta com variáveis acústicas do canto de anúncio de *Allobates* na Amazônia brasileira. FOA: Floresta Ombrófila Aberta. FOD: Floresta Ombrófila Densa. As observações representam valores médios das 21 espécies analisadas por local (n=34). 21
- Figura 7.** Correlação entre tamanho do corpo (CRU) e variáveis acústicas do canto de anúncio de *Allobates* nas florestas ombrófilas abertas e densas. Gráficos da relação CRU e duração do canto foram omitidos da figura pela falta de significância estatística em ambas as categorias de florestas. As observações representam valores médios de espécies em cada localidade amostrada (Tabela 1). 22

Artigo redigido e submetido nas normas da revista **Bioacoustics**.

1. Introdução

A habilidade de se comunicar acusticamente com outros animais, da mesma ou de espécies distintas, desempenha um papel importante na vida de animais que emitem sinais acústicos. Estes sinais acústicos, produzidos pelo emissor e que se propagam no ambiente até o receptor, podem ter funções que variam de acordo com contextos sociais, como, por exemplo, canto agonístico, de alarme, anúncio e territorial (Littlejohn 1977; Farina 2013; Hödl and Amézquita 2001). Para anuros, a emissão de cantos de anúncio emitidos por machos é extremamente importante para a atração de fêmeas durante o período de reprodução e está diretamente ligada com sucesso reprodutivo (Wells 2007). Sinais acústicos são influenciados por diversos fatores (Sugai et al. 2021), tais quais características intrínsecas a espécie ou indivíduo (e.g., capacidade de produção de sinais) e características extrínsecas (e.g., propriedade acústica do ambiente onde o sinal é propagado) (Ziegler et al. 2011).

A frequência do canto de anúncio em anuros é uma importante propriedade associada a características intrínsecas do indivíduo e da espécie, visto que depende da morfologia do aparato produtor de som e do sistema neurológico (Wallschläger 1980; Ryan 1986). A relação entre tamanho corpóreo e capacidade de emitir determinadas faixas de frequência é bem conhecida para diversos grupos, como aves (e.g., Ryan and Brenowitz 1985; Charlton et al. 2019), mamíferos (e.g., García-Navas and Blumstein 2016) e anuros (Boeckle et al. 2009; Erdtmann and Amézquita 2009; Sugai et al. 2021). De maneira geral, organismos maiores vocalizam com frequências mais baixas quando comparados com organismos menores (Gerhardt et al. 1996; Loughheed et al. 2006), tanto a nível intraespecífico quanto interespecífico. Entretanto, a influência do tamanho corpóreo sobre características temporais do canto de anúncio segue pouco compreendida em anuros, sendo principalmente conhecida para aves (Mason and Burns 2015; García et al. 2014). Para anuros, as características temporais do canto vêm sendo principalmente associadas à temperatura, mas não ao tamanho dos indivíduos (Zweifel 1959; Ryan 1998; Wells 2007).

O ambiente onde o sinal acústico é propagado pode também exercer influência sobre as propriedades do sinal acústico, já que características ambientais (e.g., densidade de árvores e troncos, umidade do ar, presença de corpos d'água) podem representar barreiras físicas, afetando a propagação das ondas sonoras (Morton 1975; Farina 2013). Ambientes florestais, por exemplo, são mais propícios à atenuação e

reverberação do sinal acústico pela vegetação do que ambientes abertos (Morton 1975). Segundo a Hipótese da Adaptação Acústica (HAA), a reverberação e absorção sonora em ambientes com vegetação mais densa favorecem cantos com frequências mais baixas, de maior duração e com menores taxas de repetição (Morton 1975; Ey and Fischer 2009; Erdtmann and Lima 2013). Tendo em vista o papel da comunicação em animais sociais, é esperado que características do ambiente exerçam pressão seletiva sobre componentes acústicos que constituem a sinalização acústica. Embora alguns estudos tenham testado HAA em anuros, não há consenso quanto à influência do ambiente sobre a evolução dos distintos componentes que formam os sinais acústicos (Ey and Fischer 2009; Erdtmann and Lima 2013; Salvático et al. 2014). Além disto, a maioria dos estudos com abordagem multi-taxa foram realizados com espécies ocorrendo em ambientes muito contrastantes, como, por exemplo, ambiente aberto e ambiente florestal (e.g., Zimmerman 1983). Na Amazônia, o único estudo conduzido com anuro ao longo de ambientes florestais (Salvático et al. 2014) encontrou uma relação direta entre mudanças contínuas na vegetação e características temporais e espectrais do sinal acústico emitido por *Allobates caldwella* (Lima et al. 2020). Entretanto, a influência de variações discretas da floresta sobre as propriedades do sinal acústico de anuros amazônicos permanece pouco explorada.

Allobates é um gênero diverso de pequenos anuros florestais com mais de 50 espécies descritas, tendo espécies distribuídas por toda a Amazônia (Grant et al. 2017). As espécies em sua maioria são territoriais e habitam a serapilheira de florestas que apresentam variação na densidade de árvores. O tamanho corpóreo médio varia relativamente pouco entre espécies (14 até 24 mm), quando comparado com outros gêneros de anuros neotropicais. Embora comunicação visual seja importante no grupo de *Allobates femoralis* cujas espécies são coloridas (Hödl and Amézquita 2001), a emissão de sinais acústicos representa um relevante meio de comunicação intra e interespecífico. Estas características tornam *Allobates* um modelo para se entender a adequabilidade das predições da HAA em ambientes com variações ambientais menos abruptas. Além disto, é presumível que variações na estrutura da floresta exerçam influência nos sinais acústicos das espécies, tendo diferença nos sinais acústicos entre as espécies que ocorrem em florestas mais fechadas com maior densidade de árvores e as que ocorrem em florestas mais abertas com menor densidade.

Sinais acústicos são determinados por múltiplos fatores, podendo ter influência, por exemplo, do ambiente, da filogenia ou da morfologia (Sugai et al. 2021). A morfologia do corpo dos anuros possui uma variação menor entre espécies do mesmo gênero do que entre gêneros distintos (Vidal-García et al. 2014), influenciada pelo ambiente e por restrições evolutivas (Citadini and Gomes 2018). Já que a morfologia tem uma grande influência nos sinais acústicos, espécies mais próximas filogeneticamente também tendem a ter sinais acústicos mais similares (Cocroft and Ryan 1995; Panhuis et al. 2001). Em estudos anteriores sobre o efeito da HAA em anfíbios, poucos consideraram o efeito filogenético (Zimmerman 1983; Erdtmann and Lima 2013). No entanto, sinais acústicos possuem uma influência filogenética significativa (Sulbarán et al. 2019). Dessa forma, para avaliar os efeitos do ambiente e do tamanho do corpo nas características acústicas, é importante considerar o efeito filogenético (Erdtmann and Lima 2013; Goutte et al. 2018; Röhr et al. 2020; Sugai et al. 2021).

Considerando os diferentes fatores intrínsecos e extrínsecos capazes de influenciar a comunicação acústica das espécies, nosso objetivo foi investigar se os sinais acústicos de 21 espécies de *Allobates* distribuídos na Amazônia foram moldados pelo tamanho do corpo associados à deriva genética e fixados pelo ambiente, ou se houve adaptação local independente da deriva genética. Nossa hipótese é de que variáveis temporais e espectrais do canto estariam relacionadas com o tamanho das espécies, independente da deriva genética, e que as espécies responderiam conforme a previsão da HAA, a qual prevê que em ambientes com vegetação mais densa favorecem sinais acústicos com frequências mais baixas, de maior duração da nota e com menores taxas de repetição.

2. Material e Métodos

Área de estudo

O estudo foi realizado em 10 localidades na Amazônia brasileira (Figura 1), sendo seis localidades em Florestas Ombrófilas Densas (FOD) e quatro em Florestas Ombrófilas Abertas (FOA) (IBGE 2010). FOA são florestas com menor densidade arbórea, que já foram, inclusive, nominadas como uma espécie de transição entre a floresta Amazônica e áreas fora da Amazônia (Velooso et al. 1991). Enquanto FOD apresentam árvores de altura uniforme, podendo chegar até 50 m de altura, as FOA são

caracterizadas por uma predominância de plantas menores, como palmeiras, cipó, sororoca ou bambu (IBGE 2010).

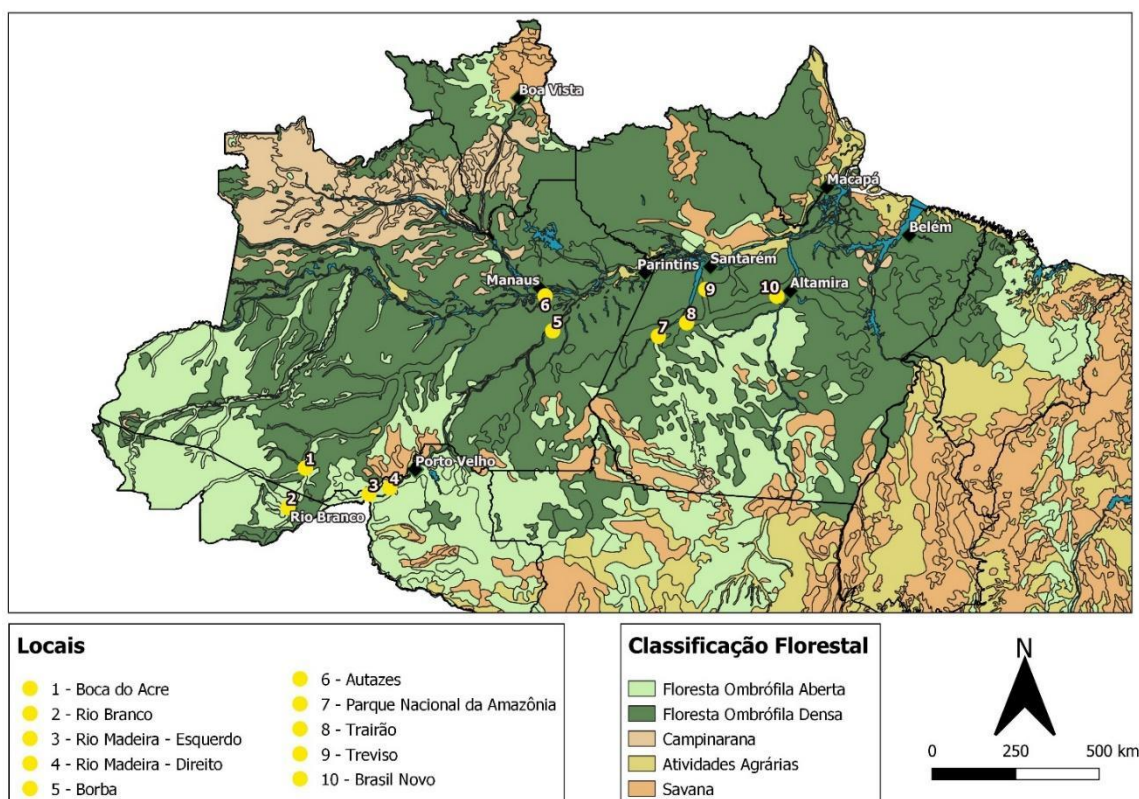


Figura 1. Mapa com os locais de estudo e sua respectiva classificação florestal, de acordo com IBGE (2010). Os locais 1 – 4 estão localizados em Floresta Ombrófila Aberta, enquanto os locais 5 – 10 estão localizados em Floresta Ombrófila Aberta.

Organismos de estudo

Nesse estudo usamos o canto de anúncio de 21 espécies de *Allobates* (Anura: Aromobatidae) distribuídas em 10 localidades (Tabela 1). Em cada localidade foi registrado entre 2 e 4 espécies (Tabela 1). Das 21 espécies gravadas, 13 estiveram restritas a apenas um local, com 8 dessas espécies ocorrendo em dois ou mais locais amostrados. No entanto, 20 dessas espécies ocorreram exclusivamente em apenas um tipo florestal, com exceção de *A. nidicola*, que ocorreu nos dois tipos florestais. O tamanho médio das espécies variou entre 13.8 e 20.3mm, com tamanho médio de 16.6 mm.

Tabela 1. Espécies de *Allobates* amostradas e número de machos gravados por localidade e tipo de florestas. Coordenadas geográficas são apresentadas em graus decimais. Abreviações: FOA = Floresta Ombrófila Aberta; FOD = Floresta Ombrófila Densa.

| Localidade | Espécie | Gravações | Tipo de floresta | Coordenadas |
|--------------|-----------------|-----------|------------------|-------------------|
| Boca do Acre | <i>A. tinae</i> | 6 | FOA | -8.71823 -67.3294 |

| | | | | |
|-----------------------------|------------------------------|----|-----|-------------------|
| | <i>A. subfolionidificans</i> | 5 | | |
| | <i>A. aff. trilineatus</i> 1 | 4 | | |
| | <i>A. aff. gasconi</i> 1 | 5 | | |
| Rio Branco | <i>A. subfolionidificans</i> | 5 | FOA | -9.95243 -67.8737 |
| | <i>A. aff. trilineatus</i> 1 | 5 | | |
| | <i>A. flaviventris</i> | 4 | | |
| Rio Madeira – esquerdo | <i>A. nidicola</i> | 7 | FOA | -9.15889 -64.6339 |
| | <i>A. aff. tapajos</i> 1 | 6 | | |
| | <i>A. tinae</i> | 7 | | |
| | <i>A. aff. gasconi</i> 2 | 5 | | |
| Rio Madeira – direito | <i>A. aff. tinae</i> 1 | 9 | FOA | -9.33161 -64.7025 |
| | <i>A. aff. tapajos</i> 1 | 6 | | |
| | <i>A. flaviventris</i> | 7 | | |
| Borba | <i>A. grillisimilis</i> | 6 | FOD | -4.43944 -59.6195 |
| | <i>A. caeruleodactylus</i> | 6 | | |
| | <i>A. aff. tinae</i> 2 | 5 | | |
| | <i>A. masniger</i> | 6 | | |
| Autazes | <i>A. caldwellae</i> | 10 | FOD | -3.60992 -59.5138 |
| | <i>A. caeruleodactylus</i> | 6 | | |
| | <i>A. nidicola</i> | 4 | | |
| | <i>A. paleovarzensis</i> | 8 | | |
| Parque Nacional da Amazônia | <i>A. tapajos</i> | 6 | FOD | -4.60535 -56.3227 |
| | <i>A. magnussoni</i> | 7 | | |
| | <i>A. masniger</i> | 7 | | |
| Trairão | <i>A. magnussoni</i> | 10 | FOD | -4.75697 -55.9656 |
| | <i>A. grillicantus</i> | 7 | | |
| | <i>A. nunciatus</i> | 15 | | |
| | <i>A. tapajos</i> | 11 | | |
| Treviso | <i>A. magnussoni</i> | 7 | FOD | -3.14911 -54.8403 |
| | <i>A. tapajos</i> | 7 | | |
| Brasil Novo | <i>A. crombiei</i> | 5 | FOD | -3.35769 -52.627 |
| | <i>A. carajas</i> | 15 | | |
| | <i>A. tapajos</i> | 8 | | |

Amostragem bioacústica

As gravações foram realizadas por A.P. Lima entre 2002 e 2020 durante o período chuvoso, que coincide com o período reprodutivo das espécies estudadas. Os cantos de anúncio de machos ativos foram gravados no período da manhã e final de

tarde, que representa o pico de atividade vocal das espécies. Gravações foram feitas com um microfone AKG 568 EB conectado a um gravador Sony WM-D6C. O microfone foi posicionado cerca de um metro de cada macho gravado. A temperatura do ar foi aferida com um termômetro digital e o comprimento rostro-cloacal dos machos gravados foi aferido através de paquímetro digital.

O número de machos gravados variou entre 4 e 15 por espécie, totalizando 237 gravações. Foram mensurados os seguintes parâmetros acústicos: duração do canto, duração da nota, taxa de repetição (número de notas emitidas no intervalo de 60s) e frequência dominante (Hz). Parâmetros acústicos foram mensurados através do Raven (Charife et al. 2010) seguindo a configuração proposta por Kaefer and Lima (2012): window = Blackman; Discrete Fourier Transform = 2.048 samples; 3 dB filter bandwidth = 82 Hz. Frequência dominante foi medida através do comando *Peak Frequency*.

Os cantos de anúncio das 21 espécies de *Allobates* analisadas no presente estudo podem ser classificados em dois tipos (Figura 2): cantos compostos por uma única nota emitida de maneira contínua (*A. caeruleodactylus*, *A. magnussoni*, *A. masniger*, *A. nidicola* e *A. subfolionidificans*) e cantos compostos por grupos de duas ou mais notas (*A. caldwella*, *A. carajas*, *A. crombiei*, *A. flaviventris*, *A. aff. gasconi* 1, *A. aff. gasconi* 2, *A. grillcantus*, *A. grillisimilis*, *A. nunciatus*, *A. paleovarzensis*, *A. tapajos*, *A. aff. tapajos* 1, *A. tinae*, *A. aff. tinae* 1, *A. aff. tinae* 2 e *A. aff. trilineatus* 1). Para as espécies com cantos caracterizados pela emissão contínua de notas, os parâmetros acústicos foram aferidos em 20 notas por indivíduo, distribuídas ao longo de um minuto de gravação; nestas espécies, a duração do canto é equivalente à duração da nota. Para as espécies com cantos compostos por grupos de notas, os parâmetros acústicos foram aferidos em 5 grupos de notas, sendo medidas todas as notas de cada grupo. Em ambos os tipos de cantos, a taxa de repetição foi calculada através da contabilização do número de notas emitido dentro do intervalo de 1 minuto.

Os parâmetros acústicos foram sumarizados usando médias por indivíduo e, posteriormente, as médias por espécie em cada local. A unidade amostral, a depender da análise, foi espécie por local (n=34) ou espécie (n=21). Matrizes de dissimilaridade foram calculadas independentemente para cada parâmetro espectral e temporal através função *vegdist* do pacote *vegan* (Oksanen et al. 2020). Para tal, foi utilizada distância euclidiana entre as médias dos parâmetros acústicos de cada espécie. Matrizes de

dissimilaridade também foram feitas entre as espécies considerando a distância geográfica.

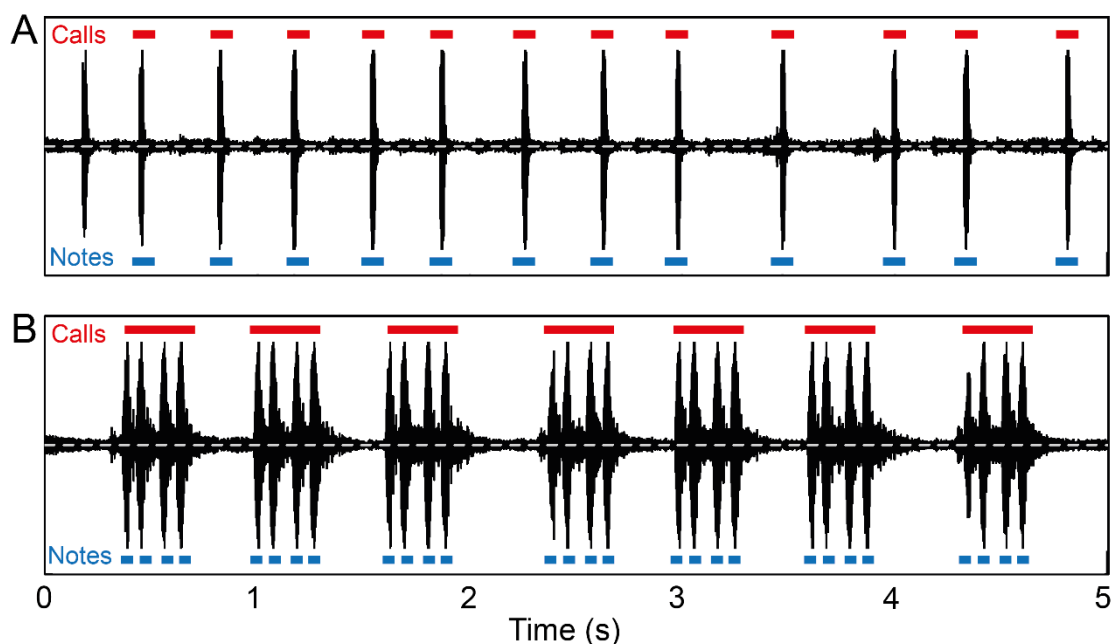


Figura 2. Tipos de estrutura de cantos em *Allobates*. (A) Cantos compostos por uma única nota emitida continuamente (*A. caeruleodactylus*, Borba). (B) Cantos compostos por grupos de duas ou mais notas (*A. nunciatus*, Trairão).

Amostragem vegetação

Inicialmente, utilizamos dados de biomassa da Amazônia disponíveis em Baccini et al. (2012), extraídos para cada localidade através do QGIS (versão 3.4.13, 2020). Nos locais de estudo deste trabalho, observamos que as FOA apresentaram biomassa variando entre 197 e 220 Mg/Ha, enquanto as FOD tiveram a variação de biomassa entre 274 e 355 Mg/Ha. Em um estudo sobre densidade de árvores ao longo do interflúvio Purus-Madeira — trecho com uma transição entre Florestas Ombrófilas Abertas e Florestas Ombrófilas Densas — Schiatti et al. demonstraram que, ambientes com maior biomassa vegetal, tendem a ter maior quantidade de árvores (2016). É possível supor, então, que florestas mais densas teriam maior quantidade de árvores, o que significa, possivelmente, maior reverberação e absorção das ondas acústicas. No entanto, considerando que os dados foram coletados ao longo de duas décadas, é possível ter havido uma variação de biomassa ao longo desses anos. Seguindo a recomendação de Hardt and Benedictn (2020), testamos se as duas classes de florestas são estruturalmente diferentes. Os valores de biomassa de cada localidade foram então comparados aos tipos florestais (florestas ombrófilas densas e florestas ombrófilas

abertas) através de um teste T, que indicou haver similaridade entre dados categóricos e contínuos (teste T: $t = -14.1$, $df = 27.6$, $p < 0.001$). Optamos por fazer as análises comparando essas duas classes florestais, que são estruturalmente distintas, determinadas pelo mapa de categoria de vegetação do IBGE (2010), já que não temos acesso a dados de vegetação no mesmo ano das gravações.

Amostragem molecular e inferência filogenética

DNA genômico de um indivíduo por espécie foi extraído através do kit comercial Wizard (Promega Corp., Madison, WI, USA) seguindo as instruções do fabricante. Fragmentos do gene mitocondrial 16S rRNA foram amplificados via Reações de Cadeia Polimerase (PCR) utilizando-se os primers 16sar (5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3') e 16sbr (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3') (Palumbi 1996). Os protocolos de PCR e de sequenciamento de ambos os primers seguiram Lima et al. (2014). Sequências foram checadas visualmente e editadas manualmente no Geneious 5.3.4 (Kearse et al. 2012). Sequências editadas foram depositadas no GenBank.

Sequências 16S rRNA adicionais de outras espécies nominais e candidatas de *Allobates* obtidas por outros estudos foram baixadas do GenBank, bem como uma sequência representativa de *Anomaloglossus stepheni* utilizada como outgroup. O banco de dados contendo todas as sequências foi alinhado seguindo a configuração padrão da implementação online do MAFFT (Madeira et al. 2019), exceto pelo uso da estratégia E-INS-i. O alinhamento resultante foi editado no Geneious 5.3.4. O alinhamento final foi composto por 87 terminais e 556 pares de base. As distâncias genéticas par-a-par não corrigidas (distância p) das 21 espécies de *Allobates* incluídas nas análises acústicas foram calculadas no MEGA 7 (Kumar et al. 2016).

O melhor modelo evolutivo explicativo para substituições nucleotídicas do alinhamento final foi aferido através do PartitionFinder 2.1.1 (Lanfear et al. 2016) via servidor online CIPRES (phylo.org), usando Critério de Inferência Bayesiana e algoritmo PhyML (Guindon et al. 2010); GTR+G+I foi recuperado como modelo evolutivo mais adequado. O relacionamento filogenético das 21 espécies incluídas aqui e demais congêneres foi inferido através de Inferência Bayesiana com o BEAST 2.5 (Bouckaert et al. 2014), configurado da seguinte maneira: Yule tree prior, strict clock model, corrida única de 100 milhões de gerações amostradas a cada 10 mil Markov

chain Monte Carlo chains (MCMC). A estacionaridade das distribuições posteriores de todos os parâmetros foi verificada através do Tracer 1.7 (Rambaut et al. 2018); todos os parâmetros tiveram estimated sample size (ESS) maior que 200. A maximum clade credibility tree (MCC) foi reconstruída no TreeAnnotator (Rambaut et al. 2018) após 10% de burn-in. A MCC contendo todos os terminais foi reduzida através do comando “drop.tip” do pacote *ape* 5.5 (Paradis and Schliep, 2019) de maneira a conter apenas as 21 espécies incluídas nas análises descritas a seguir.

Análises estatísticas

Análises estatísticas foram feitas no R 3.5.3 (R Core Team 2019).

O parentesco filogenético entre espécies pode influenciar os sinais acústicos emitidos por espécies proximamente relacionadas. Tendo isto em vista, a correlação entre distância genética e as variáveis bioacústicas (frequência dominante, duração da nota, duração do canto e taxa de repetição) foi testada através de teste de Mantel. A distância geográfica entre as espécies também pode influenciar na evolução dos sinais acústicos. Considerando isso, a correlação entre a distância geográfica e as variáveis acústicas foi testada também através de teste de Mantel. Testes independentes com 1000 permutações cada foram realizados utilizando a matriz de distância genética interespecífica (distância *p*) e a matriz de distância geográfica em comparação a matrizes de dissimilaridades acústicas. Os testes foram computados através da função “mantel” do pacote *vegan*.

Considerando os possíveis efeitos da morfologia nas características temporais e espectrais do canto, análises de regressões lineares foram usadas para avaliar a relação entre o tamanho corpóreo (CRU) dos machos gravados e os valores médios de frequência dominante, duração da nota, duração do canto e taxa de repetição. Considerando o possível efeito da temperatura nos sinais acústicos, já registrada para espécies de *Allobates* (Simões et al. 2008, Kaefer et al. 2012), o efeito da temperatura sobre os valores médios das variáveis temporais e espectrais dos cantos foi testada também através de regressões lineares.

Sinais acústicos emitidos por anuros podem estar sob pressões seletivas distintas e não exclusivas (Ziegler et al. 2011; Farina 2013; Sulbarán et al. 2019), como, por exemplo, variação ambiental, tamanho do corpo e filogenia. Investigar o papel do

ambiente e tamanho do corpo na evolução de sinais acústicos sem considerar o efeito da filogenia pode enviesar resultados e conclusões acerca da HAA. Este tipo de viés pode ser minimizado ou mesmo excluído através do uso de métodos filogenéticos comparativos, como, por exemplo, Modelos Filogenéticos Generalizados pelos Quadrados Mínimos — PGLS (Grafen 1989; Symonds and Blomberg 2014). Neste tipo de análise, o efeito das variáveis preditoras sobre os sinais acústicos é obtido após considerar o efeito da filogenia, caso exista. Tendo isto em vista, PGLSs foram realizadas aqui para inferir se a categoria de floresta e o tamanho médio do corpo das espécies influenciam as variáveis acústicas (frequência dominante, duração da nota, duração do canto e taxa de repetição) em *Allobates*. Foram realizadas PGLSs simples entre cada uma das variáveis preditoras (tamanho médio do corpo e classe de floresta) e variáveis acústicas (médias por espécies), totalizando 8 PGLSs. A árvore filogenética ultramétrica contendo apenas as 21 espécies de *Allobates* foi utilizada como input nas PGLSs.

3. Resultados

As relações filogenéticas entre espécies de *Allobates* recuperadas através de Inferência Bayesiana foram similares as anteriormente inferidas por outros estudos. Não houve agrupamento filogenético das espécies de acordo com as duas categorias de florestas amostradas neste estudo (Fig. 1). Com exceção de um grande clado composto unicamente por espécies de florestas ombrófilas densas, os demais grandes clados foram compostos tanto por espécies de florestas ombrófilas abertas quanto espécies de florestas ombrófilas densas (Fig. 1). Dentre as 21 espécies de *Allobates* incluídas no presente estudo, apenas *Allobates nidicola* ocorre em ambas as categorias de florestas.

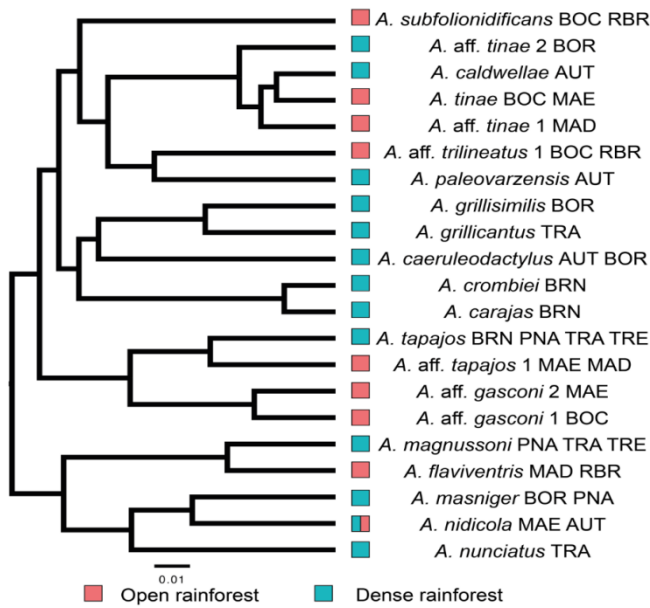


Figura 3 Árvore de máxima credibilidade do clado resumindo a relação de 21 espécies de *Allobates* utilizada como input no PGLS. As cores dos quadrados indicam a categoria florestal. Localidades: AUT, Autazes; BOC, Boca do Acre; BOR, Borba; BRN, Brasil Novo; MAD, margem leste do alto rio Madeira; MAE, margem oeste do alto rio Madeira; PNA, Parque Nacional da Amazônia; RBR, Rio Branco; TRA, Trairão; TRE, Treviso.

Efeito da distância geográfica nos parâmetros acústicos

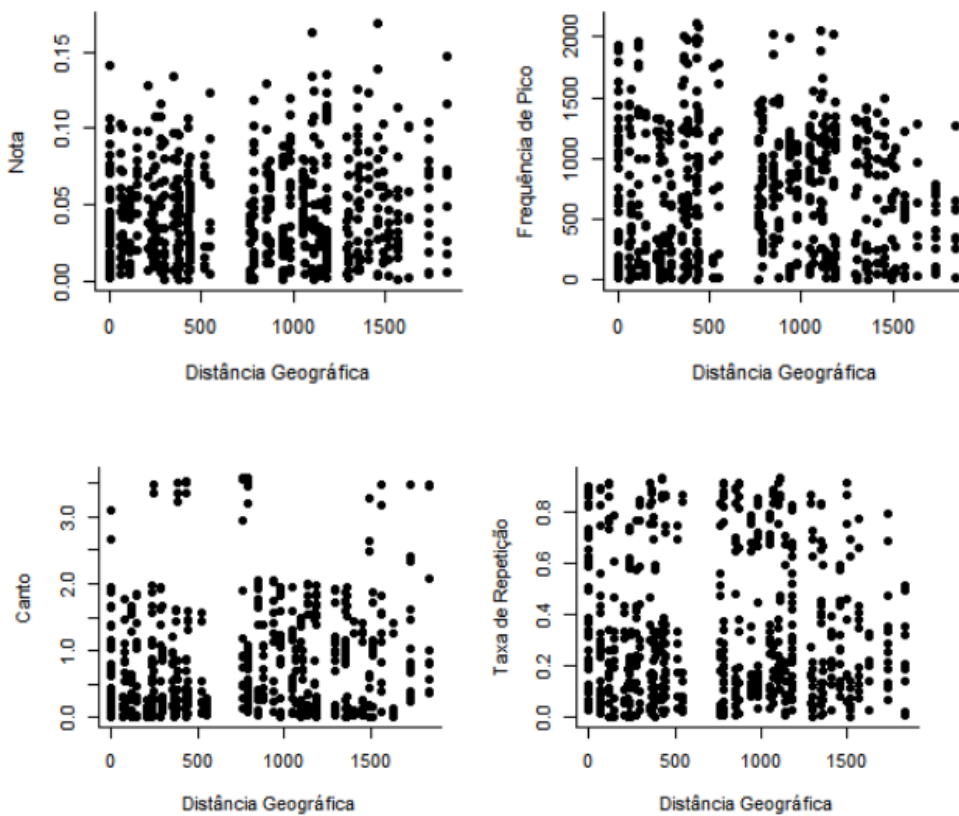


Figura 4. Gráficos mostrando a relação entre a dissimilaridade das variáveis acústicas relacionadas à distância geográfica entre cada par de espécies. Os pontos representam a distância par-a-par entre as espécies.

Testes de Mantel parcial foram realizados entre a dissimilaridade de variáveis acústicas e a distância geográfica, considerando a dissimilaridade genética. Para nenhuma das variáveis bioacústicas houve efeito da distância geográfica (Figura 4). Resultados estatísticos: Duração da Nota: mantel parcial: mantel statistic $r = 0.07$, $p = 0.07$; Frequência de Pico: mantel parcial: mantel statistic $r = -0.07$, $p = 0.96$; Duração do canto: mantel parcial: mantel statistic $r = 0.14$, $p = 0.09$; Taxa de Repetição da Nota: mantel statistic $r = -0.03$; $p = 0.69$.

Efeitos da temperatura nos parâmetros acústicos

A temperatura do ambiente no momento das gravações não exerce pressão nem na duração do canto (PGLS: $F = 0.01$, $r^2 = -0.05$, $p = 0.90$), duração da nota (PGLS: $F = 0.50$, $r^2 = -0.02$, $p = 0.48$), taxa de repetição da nota (PGLS: $F = 0.03$, $r^2 = -0.05$, $p = 0.84$) e nem na frequência dominante dos cantos (PGLS: $F = 0.86$, $r^2 = -0.006$, $p = 0.36$).

Efeito do tamanho corpóreo nos parâmetros acústicos

O comprimento do corpo (CRU) das espécies estudadas de *Allobates* exerce efeito significativamente negativo sobre a frequência dominante dos cantos de anúncio, explicando 75% da variação observada (PGLS: $F = 61.79$, $r^2 = 0.75$, $p < 0.001$). O CRU também influencia significativamente a taxa de repetição de notas nos cantos (PGLS: $F = 6.52$, $r^2 = 0.21$, $p = 0.02$) e explica 21% da variação, entretanto, apresenta efeito positivo sobre a mesma. Em termos gerais, enquanto a frequência dominante diminui com o aumento do corpo das espécies (Figura 5A), a taxa de repetição de notas aumenta (Figura 5B). Por outro lado, o CRU não afeta a duração do canto (PGLS: $F = 0.78$, $r^2 = -0.01$, $p = 0.38$; Figura 5C) e nem a duração da nota (PGLS: $F = 0.21$, $r^2 = -0.04$, $p = 0.64$; Figura 5D), onde a relação é quadrática (regressão quadrática com log da nota: $F=5.34$, $r^2= 0.2$, $p=0.01$).

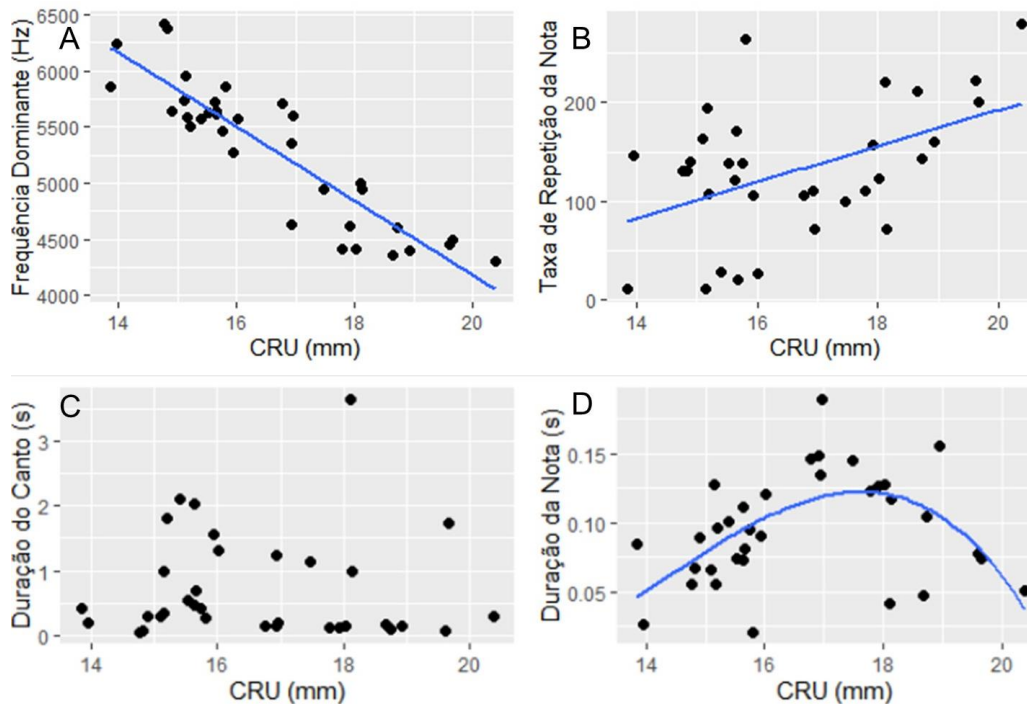


Figura 5. Relação do tamanho do corpo (CRU) com variáveis acústicas do canto de anúncio de 21 espécies de *Allobates* na Amazônia brasileira.

Efeito da floresta nos parâmetros acústicos

A floresta influencia significativamente a duração da nota nos cantos de anúncios de *Allobates* e explica 16% da variação observada (PGLS: $F = 4.67$, $r^2 = 0.16$, $p = 0.04$). As notas dos cantos das espécies tendem ser mais longas nas florestas ombrófilas abertas (FOA) do que nas florestas ombrófilas densas (FOD) (Figura 6A). Embora marginalmente significativa, o ambiente explica 14% da variação na duração do canto (PGLS: $F = 4.17$, $r^2 = 0.14$, $p = 0.055$), havendo uma tendência a cantos mais longos nas florestas ombrófilas abertas quando comparado com as densas (Figura 6B). Por outro lado, a floresta não explica significativamente a variação na taxa de repetição das notas (PGLS: $F = 0.95$, $r^2 = -0.002$, $p = 0.34$; Figura 6D) e nem na frequência dominante (PGLS: $F = 0.78$, $r^2 = -0.01$, $p = 0.38$; Figura 6C) dos cantos de anúncio.

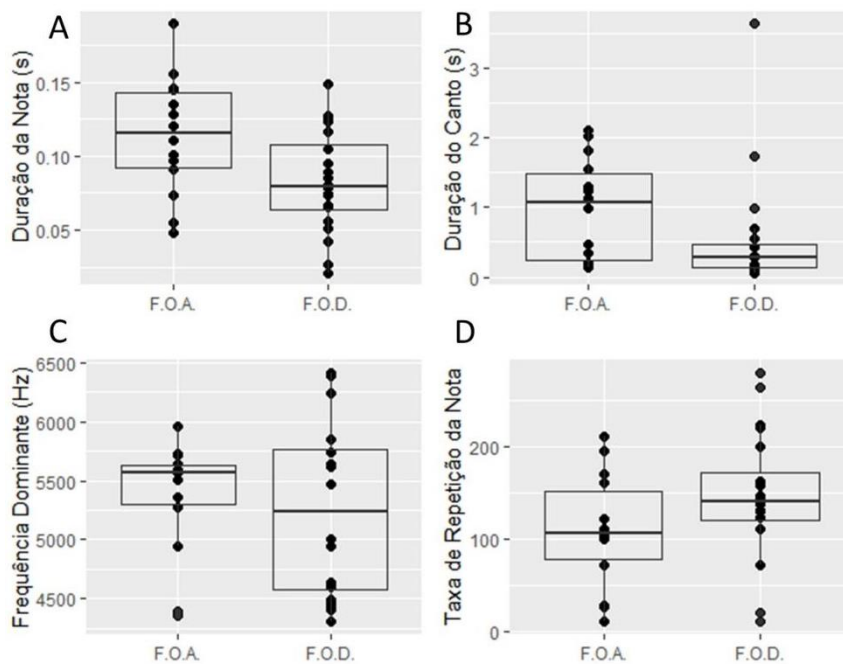


Figura 6. Comparação entre as duas classes de floresta com variáveis acústicas do canto de anúncio de *Allobates* na Amazônia brasileira. FOA: Floresta Ombrófila Aberta. FOD: Floresta Ombrófila Densa. As observações representam valores médios das 21 espécies analisadas por local (n=34).

Relação entre CRU e variáveis acústicas nas classes de florestas

As correlações entre o tamanho do corpo (CRU) e variáveis acústicas variam conforme a categoria de floresta (Figura 7). A duração da nota tem correlação linear positiva com o tamanho das espécies distribuídas nas florestas ombrófilas abertas (regressão linear (RL): $F = 10.61$, $r^2 = 0.44$, $p = 0.008$; Figura 7A), porém a relação é quadrática nas florestas ombrófilas densas (regressão quadrática: $F = 14.27$, $r^2 = 0.61$, $p = 0.0003$; Figura 7B). Enquanto nas florestas ombrófilas abertas a duração da nota aumenta conforme o CRU aumenta, nas florestas ombrófilas densas a duração cresce junto com o CRU até aproximadamente 18 mm, depois deste limiar a duração da nota diminui conforme o CRU aumenta (Figura 7B).

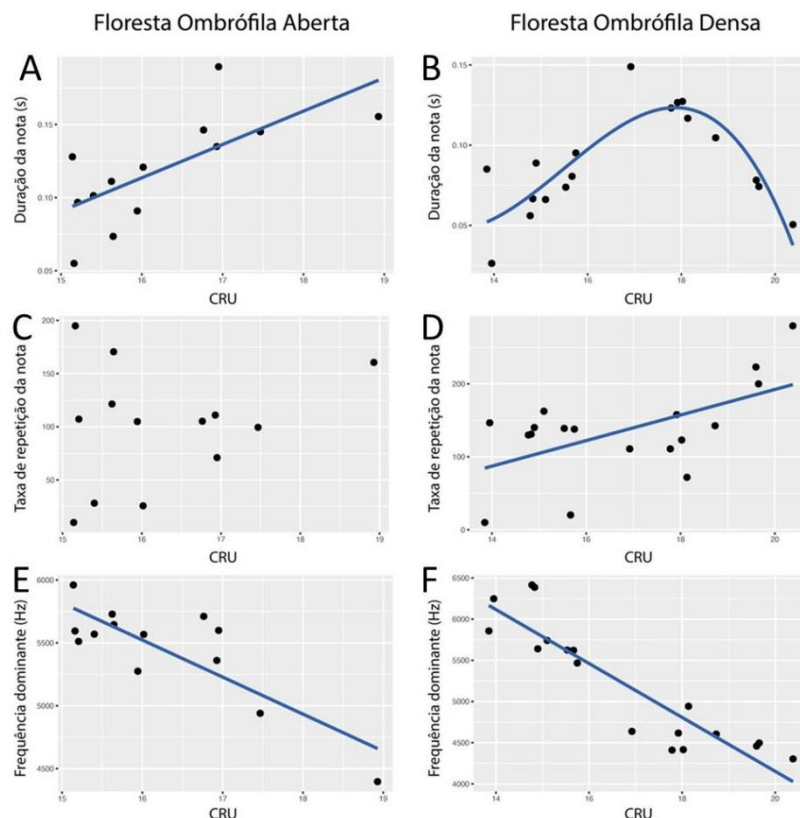


Figura 7. Relação entre tamanho do corpo (CRU) e variáveis acústicas do canto de anúncio de *Allobates* nas florestas ombrófilas abertas e densas. As relações estatisticamente não significativas foram omitidas da figura. As observações representam valores médios de espécies em cada localidade amostrada (Tabela 1).

Embora a taxa de repetição da nota não tenha correlação significativa com o CRU nas florestas ombrófilas abertas (RL: $F = 0.52$, $r^2 = -0.04$, $p = 0.48$; Figura 7C), a variação destas duas variáveis está positivamente correlacionada nas florestas ombrófilas densas (RL: $F = 7.82$, $r^2 = 0.29$, $p = 0.01$; Figura 7D). Diferente das duas variáveis acústicas mencionadas acima, a frequência dominante dos cantos está negativamente correlacionada com o CRU tanto nas florestas ombrófilas abertas (RL: $F = 22.90$, $r^2 = 0.65$, $p = 0.005$; Figura 7E) quanto nas fechadas (RL: $F = 77.18$, $r^2 = 0.82$, $p < 0.0001$; Figura 7F). Entretanto, o número de espécies maiores emitindo cantos com frequências mais baixas é maior na floresta ombrófila densa do que na floresta ombrófila aberta (Figura 7E–F). Por fim, a correlação entre duração do canto e CRU não foi estatisticamente significativa em ambas as florestas.

4. Discussão

Os efeitos da temperatura do ambiente, tamanho do corpo (CRU), parentesco filogenético e estrutura do habitat sobre as propriedades dos sinais acústicos têm sido frequentemente explorada em anuros (veja Ey and Fischer 2009, Erdtmann and Lima

2013, Hardt and Benedict 2021). A hipótese de adaptação acústica proposta por Morton (1975) prevê que características do habitat exerçam pressão adaptativa nos sinais acústicos emitidos pelas espécies. Tem sido amplamente recomendado que a influência do habitat na evolução da sinalização acústica deva ser investigada concomitantemente com os possíveis efeitos das três primeiras variáveis mencionadas acima, visto que estas podem enviesar resultados e interpretações (Hardt and Benedict 2021).

A temperatura ambiental tem sido apontada como um forte preditor da variação intraspecífica em sinais acústicos emitidos por algumas espécies de *Allobates* (Simões et al. 2008, Kaefer et al. 2012). Nossos modelos lineares que integram a não-independência filogenética dos dados (PGLS) mostraram que a temperatura ambiental não exerce influência significativa sobre nenhum dos quatro sinais acústicos estudados (duração do canto, duração da nota, taxa de repetição da nota e frequência dominante). Dois fatores não excludentes podem estar por trás destes resultados: (1) efeitos da temperatura sobre parâmetros acústicos podem ser dependentes da escala do estudo, tanto geográfica quanto biológica (intra-específica *versus* interespecífica); (2) vocalizações foram gravadas no pico de atividade das espécies (início da manhã, fim da tarde, ou diversos horários durante dias chuvosos) e houve pouca variação na temperatura ambiental média (24.8–27.3 °C). Embora a ausência de pressão adaptativa da temperatura ambiental sobre sinais acústicos em anuros não seja novidade (Penna et al. 2013), a diferença de resultados entre nosso estudo e o previamente observado em algumas espécies de *Allobates* (Simões et al. 2008, Kaefer et al. 2012) evidencia a necessidade de entender como a temperatura ambiental em florestas ombrófilas influencia os sinais acústicos das espécies em diferentes escalas.

Dentre as variáveis dos sinais acústicos estudados, a relação inversa entre frequência dominante e CRU tem sido comumente encontrada em diversos grupos taxonômicos como Bufonidae, Centrolenidae, Dendrobatidae, Hylidae, Leptodactylidae e Ranidae (Erdtmann and Amézquita 2009, Gingras et al. 2013, Goutte et al. 2016, Sulbarán et al. 2019, Muñoz et al. 2020, Tonini et al. 2020, Zhao et al. 2021). Assim como reportado para estas famílias, a frequência dominante dos cantos de anúncio de *Allobates* (Aromobatidae) é inversamente correlacionada com o CRU (Fig. 4A), explicando 75% da variação observada. Embora haja uma clara tendência de haver mais espécies emitindo cantos com frequências dominantes mais baixas nas florestas ombrófilas densas do que nas abertas (Fig. 5C), os resultados das PGLS mostram que a

frequência dominante dos cantos de *Allobates* não é significativamente influenciada pelas classes de floresta, contrariando o esperado pela Hipótese de Adaptação Acústica (Morton 1975). Tal discordância tem sido observada também em outros anuros (e.g., Goutte et al. 2018, Muñoz et al. 2020, Bezerra et al. 2021).

A utilização de métricas ambientais categóricas (e.g., classes de floresta) tem sido apontada como viés metodológico na compreensão dos efeitos da variação do habitat nas propriedades espectrais da sinalização acústica (Goutte et al. 2016, Hardt and Benedict 2021). No presente estudo, análises utilizando classes de florestas e biomassa vegetal das florestas (resultados não apresentados) mostram resultados concordantes entre si. Entretanto, é possível que nem classes de floresta e nem biomassa representem características estruturais do micro-habitat (Sebastián-González et al. 2018) ou pressões ecológicas que atuam na adaptação acústica (e.g., ruído de fundo; Goutte et al. 2016, Zhao et al. 2021).

O tamanho dos indivíduos também teve influência na taxa de repetição da nota, sem influenciar a duração do canto das espécies. Tal relação já foi registrada para aves, no entanto, ainda não havia sido observada para anuros neotropicais (García et al. 2014; Mason and Burns 2015; García and Tubaro 2018). A taxa de repetição das notas aumentou com o tamanho do corpo, relação inédita em anuros e contrária a relação conhecida para aves (cardinalídeos neotropicais e pássaros da família Thraupidae), cujos animais menores tiveram maiores taxas de repetição (García et al. 2014; Mason and Burns 2015). A razão da forma dessa relação não é clara, mas pode estar relacionada às características morfológicas ou do aparato emissor de som, que difere entre aves e anuros. Em anuros, a emissão de notas depende do formato da laringe (Wells and Schwartz 2007), enquanto em aves a emissão depende da siringe (Goller and Suthers 1996). Além disso, as espécies de ave onde tal relação foi registrada são do grupo conhecido como “songbirds”, que possuem um bom controle dos músculos da siringe, tendo capacidade de gerar sons complexos através da vibração da siringe (Suthers et al. 1999; Riede and Goller 2014). Enquanto em anuros, a morfologia da laringe determina o som e o saco vocal propaga o som como uma caixa acústica por essa razão sugerimos que o padrão que encontramos pode ser devido ao aumento do saco vocal dos indivíduos, que em geral está relacionado ao aumento do tamanho do indivíduo, relação já registrada para uma espécie de anuros da família Leptodactylidae (Pauly et al. 2006).

Nossos resultados mostram que as variações na duração do canto e da nota em *Allobates* são influenciadas pela floresta e a duração do canto não sofre pressão do tamanho do corpo. Entretanto, há uma tendência a cantos e notas mais curtas na floresta ombrófila densa quando comparado com a aberta, divergindo das predições inicialmente estabelecidas tendo aves como modelo (Morton 1975, Ey and Fischer 2009). Padrão similar ao de *Allobates* foi inferido em ranídeos que se reproduzem próximos a ambientes lóticos na Ásia. Nestes anuros, a duração da nota diminui conforme a cobertura da vegetação aumenta (Goutte et al. 2016). Embora o padrão observado em *Allobates* e nestes ranídeos seja divergente do previsto originalmente (Morton 1975), ele reforça a ideia de que a pressão ambiental sobre sinais acústicos pode ser táxon — e ambiente — dependente. Mesmo que princípios físicos da propagação sonora independam da biologia do emissor, é preciso considerar que grupos distintos de espécies podem otimizar a transmissão do sinal acústico através de estratégias comportamentais diferenciadas (e.g., Barker et al. 2009, Blumenrath and Dabelsteen, 2004). Por exemplo, experimentos com o canto do anuro tropical *Diasporus diastema* mostraram que diferenças na posição do emissor afetam diferentemente a degradação e atenuação dos sinais acústicos em ambientes densos (Sandoval et al. 2021), com menor degradação do sinal em pequenas distâncias sendo favorecidos na posição horizontal (similar a *Allobates*). Parece possível, ainda, que a baixa diferença estrutural entre florestas abertas e densas (comparada a ambientes fortemente contrastantes) favoreça outras forças seletivas (e.g., competição, sinalização bimodal) capazes de atuarem na evolução de sinais acústicos, e de maneira divergente entre ambientes. Embora fundamental na compreensão multidimensional da comunicação entre organismos sociais, os efeitos de estratégias comportamentais sobre sinais acústicos, especialmente em anuros de florestas neotropicais, permanecem pouco compreendidos e explorados.

Por fim, o tipo de relação que o corpo exerceu na duração da nota diferiu entre os dois tipos ambientais. As espécies de florestas mais abertas apresentaram duração da nota linearmente relacionada com o tamanho do corpo, similar ao já registrado para aves (García et al. 2014), indicando que espécies maiores possivelmente possuem capacidade de emitir notas mais longas quando em comparação a espécies menores. Já em florestas densas esta relação é quadrática, sendo encontrado um aumento da duração da nota até ~18 mm de CRU e, após isto, a duração da nota diminui conforme o CRU aumenta. É possível que esse padrão quadrático nas florestas mais densas seja pela relação entre a

frequência dominante e a duração da nota. Nesses ambientes com maior densidade de vegetação a duração da nota é, em média, menor, e a frequência de pico é, em média, mais baixa. Visto que variáveis temporais dos sinais acústicos são mais facilmente modificáveis ao nível de espécie ou indivíduo, podendo ser moldadas por características do ambiente (Cocroft and Ryan 1995), é possível que a relação quadrática entre tamanho do corpo e duração da nota possa ser, portanto, devido a restrições fisiológicas ou neurológicas associadas ao ambiente, o que ainda necessita ser testado.

Conclusão

Nesse estudo, demonstramos que as características dos cantos de anúncios de espécies de *Allobates* foram determinadas pelo tamanho do corpo, pela deriva genética e por filtros ambientais. Comparamos espécies próximas filogeneticamente e habitantes de florestas tropicais, mostrando que, além da proximidade filogenética, o tamanho do corpo e diferenças sutis na densidade de árvores também conduzem a diversificação nos parâmetros acústicos de um gênero de pequenos anuros de liteira. Sugerimos que mais estudos sejam realizados em florestas tropicais com anuros, para entendermos melhor os fatores que influenciam os parâmetros acústicos, dado que as florestas tropicais retêm a maior diversidade de anuros do mundo.

5. Referências Bibliográficas

- Baccini A, Goetz SJ, Walker WS, Laporte NT, Sun M, Hackler J, Houghton RA. 2012. Estimated carbon dioxide emissions from tropical deforestation improved by carbon-density maps. *Nat Climate Change*. 2(3):182–185. <https://doi.org/10.1038/nclimate1354>
- Barker NKS, Dabelsteen T, Mennill DJ. 2009. Degradation of male and female rufous-and-white wren songs in a tropical forest: effects of sex, perch height, and habitat. *Behav*. 146: 1093-1122. <https://doi.org/10.1163/156853909X406446>
- Bezerra AM, Carvalho-e-Silva SP, Gonzaga LP. 2021. Evolution of acoustic signals in neotropical leaf frogs. *Anim Behav*. 181:41-49. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2021.08.014>
- Bevier CR, Gomes FR, Navas CA. 2008. Variation in call structure and Calling behavior in tree frogs of the *Genus Scinax*. *S Am J Herpetol*. 3(3): 196-206. <https://doi.org/10.2994/1808-9798-3.3.196>

- Blumenrath S, Dabelsteen T. 2004. Degradation of Great Tit (*Parus Major*) Song before and after foliation: implications for vocal communication in a deciduous forest. *Behav.* 8: 935-958. <https://doi.org/10.1163/1568539042360152>
- Boeckle M, Preininger D, Hödl W. 2009. Communication in Noisy Environments i: Acoustic Signals of *Staurois Latopalmatus* Boulenger 1887. *Herpetologica.* 65(2): 154–165. <https://doi.org/10.1655/07-071r1.1>
- Bosch J, De La Riva I. 2004. Are frog calls modulated by the environment? An analysis with anuran species from Bolivia. *Canadian J of Zool.* 82(6): 880–888. <https://doi.org/10.1139/Z04-060>
- Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, Vaughan T, Wu C-H, Xie D, Suchard (2014) BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. *PLoS Comput Biol* 10(4): e1003537. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003537>
- Castresana J. 2000. Selection of Conserved Blocks from Multiple Alignments for Their Use in Phylogenetic Analysis. *Mol Biol and Evol.* 17(4): 540–552. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026334>
- Charife RA, AM Waack, Strickman, L. M. 2010. Raven Pro 1.4 User' s Manual. Cornell Lab of Ornithology. Ithaca, NY.
- Charlton BD, Owen MA, Swaisgood RR. Coevolution of vocal signal characteristics and hearing sensitivity in forest mammals. 2019. *Nat Commun.* 7, 12739. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10768-y>
- Citadini JM, Brandt R, Williams CR, Gomes FR. 2018. Evolution of morphology and locomotor performance in anurans: relationships with microhabitat diversification. *J Evol. Biol.* 31:371-381. <https://doi.org/10.1111/jeb.13228>
- Cocroft RB, Ryan MJ. 1995. Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs. *Anim Behav.* 49(2): 283–303. <https://doi.org/10.1006/anbe.1995.0043>
- Derryberry EP, Seddon N, Claramunt S, Seeholzer GF, Tobias JA. 2018. Ecological drivers of song evolution in birds: Disentangling the effects of habitat and morphology. *Ecol and Evol.* 8: 1890-1905. <https://doi.org/10.1002/ece3.3760>
- Erdtmann LK, Amézquita A. 2009. Differential evolution of advertisement call traits in Dart-Poison Frogs (Anura: Dendrobatidae). *Ethol.* 115: 801–811 <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2009.01673.x>
- Erdtmann LK, Lima AP. 2013. Environmental effects on anuran call design: What we know and what we need to know. *Ethol Ecol Evol.* 25(1): 1–11. <https://doi.org/10.1080/03949370.2012.744356>

- Ey E, Fischer J. 2009. The “acoustic adaptation hypothesis”- a review of the evidence from birds, anurans and mammals. *Bioacoustics*. 19(1–2): 21–48.
<https://doi.org/10.1080/09524622.2009.9753613>
- Ey E, Rahn C, Hammerschmidt K, Fischer J. 2009. Wild Female Olive Baboons Adapt their Grunt Vocalizations to Environmental Conditions. *Ethol*. 115 (5): 493-503.
<https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2009.01638.x>
- Farina A. 2013. *Soundscape Ecology: Principles, Patterns, Methods and Applications*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-7374-5>
- García NC, Barreira AS, Kopuchian C, Tubaro PL. 2014. Intraspecific and interspecific vocal variation in three Neotropical cardinalids (Passeriformes: Fringillidae) and its relationship with body mass. *BirdLife Aust*. 114: 129–136.
<http://dx.doi.org/10.1071/MU13010>
- García NC, Tubaro, PL. 2018. Dissecting the roles of body size and beak morphology in song evolution in the “blue” cardinalids (Passeriformes: Cardinalidae). *Am Ornithol Soc*. 135: 262–275. <https://doi.org/10.1642/AUK-17-146.1>
- García-Navas V, Blumstein DT. The effect of body size and habitat on the evolution of alarm vocalizations in rodents. *Biol J Linn Soc*. 118: 745-751.
<https://doi.org/10.1111/bij.12789>
- Gerhardt HC, Dyson ML, Tanner SD. 1996. Dynamic properties of the advertisement calls of gray tree frogs: patterns of variability and female choice. *Behav Ecol*. 7(1): 7-18. <https://doi.org/10.1093/beheco/7.1.7>
- Gingras B, Boeckle M, Herbst CT, Fitch WT. 2013. Call acoustics reflect body size across four clades of anurans. *J Zool*. 289(2): 143-150. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2012.00973.x>
- Goller F, Suthers RA. 1996. Role of syringeal muscles in controlling the Phenology of Bird Song. *Am Physiol Soc*. 26 (1): 287-300. <https://doi.org/10.1152/jn.1996.76.1.287>
- Goutte S, Dubois A, Howard SD, Marquez R, Rowley JLL, Dehling JM, Rongchuan X. 2016. Environmental constraints and call evolution in torrent-dwelling frogs. *Evol*. 70(4): 811-826. <https://doi.org/10.1111/evo.12903>
- Goutte S, Dubois A, Howard SD, Marquez R, Rowley JLL, Dehling JM, Grandcolas P, Xiong RC, Legendre F. 2018. How the environment shapes animal signals: a test of the acoustic adaptation hypothesis in frogs. *Evol Biol*. 31: 148-158.
<https://doi.org/10.1111/jeb.13210>
- Grafen A. 1989. The Phylogenetic Regression. *Philos Trans R Soc Lond*. 326: 119–157.
<https://doi.org/10.1098/rstb.1989.0106>

- Grant T, Rada M, Anganoy-Criollo M, Dias PH, Jeckel AM, Machado DJ, Rueda-Almonacid JV. 2017. Phylogenetic Systematics of Dart-Poison Frogs and Their Relatives Revisited (Anura: Dendrobatoidea). *S Am J Herpetol.* 12(s1): S1-S90. <https://doi.org/10.2994/SAJH-D-17-00017.1>
- Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W, Gascuel O. 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. *Syst Biol.* 59:307–32. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syq010>
- Hardt B, Benedict L. 2020. Can you hear me now? A review of signal transmission and experimental evidence for the acoustic adaptation hypothesis. *Bioacoustics.* 716-742. <https://doi.org/10.1080/09524622.2020.1858448>
- Hödl W, Amézquita A. 2001. Visual signaling in anuran amphibians. In: Ryan MJ, ed. *Anuran Communication*. Smithsonian Institution Press. Washington. 121–141.
- [IBGE] Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2010. *Manual Técnico da Vegetação Brasileira*. Vol. 55.
- Kaefer IL, Lima AP. 2012. Sexual signals of the Amazonian frog *Allobates paleovarzensis*: geographic variation and stereotypy of acoustic traits. *Behav.* 149(1):15-33. <https://doi.org/10.1163/156853912X623757>
- Kaefer IL, Tsuji-Nishikido BM, Lima AP. 2012. Beyond the river: underlying determinants of population acoustic signal variability in Amazonian direct-developing *Allobates* (Anura: Dendrobatoidea). *Acta Ethol.* 15: 187-194. <https://doi.org/10.1007/s10211-012-0126-0>
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C et al. 2012. Geneious basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinform.* 28(12):1647–1649. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol.* 33:1870-1874.
- Lanfear R, Frandsen PB, Wright AM, Senfeld T, Calcott B. 2016. PartitionFinder 2: New methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Mol Biol Evol.* 34:772–773. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw260>
- Lima AP, Simões PI, Kaefer IL. 2014. A new species of *Allobates* (Anura: Aromobatidae) from the Tapajós River basin, Pará State, Brazil. *Zootaxa.* 3889 (3): 355-387. <http://dx.doi.org/10.11646/zootaxa.3889.3.2>
- Lima AP, Ferrão M, da Silva DL. 2020. Not as widespread as thought: Integrative taxonomy reveals cryptic diversity in the Amazonian nurse frog *Allobates tinae* Melo-

- Sampaio, Oliveira and Prates, 2018 and description of a new species. *J Zool Syst Evol Res.* 58: 1173–1194. <https://doi.org/10.1111/jzs.12406>
- Littlejohn MJ. 1977. Long-range acoustic communication in anurans: An integrated and evolutionary approach. In D. H. Taylor and S. I. Guttman (eds.), *The reproductive biology of amphibians*, pp. 263-294. Plenum Press, New York. https://10.1007/978-1-4757-6781-0_8
- Lougheed SC, Austin JD, Bogart JP, Boag PT, Check AA. 2006. multi-character perspectives on the evolution of intraspecific differentiation in a neotropical hyloid frog. *BMC Evol Bio.* 6(23): -. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-6-23>
- Madeira F, Park Y, Lee J, Buso N, Gur T, Madhusoodanan N, Lopez R. 2019. The EMBL-EBI search and sequence analysis tools APIs in 2019. 47: 636–641. <https://doi.org/10.1093/nar/gkz268>
- Mason NA, Burns KJ. 2015. The effect of habitat and body size on the evolution of vocal displays in Thraupidae (tanagers), the largest family of songbirds. *Biol J Linn Soc.* 114: 538-551. <https://doi.org/10.1111/bij.12455>
- Morton ES. 1975. Ecological Sources of Selection on Avian Sounds. 1975. *Am Nat.* 109: 17-34. <https://doi.org/10.1086/282971>
- Muñoz MI, Goutte S, Ellers J, Halfwerk W. 2020. Environmental and morphological constraints interact to drive the evolution of communication signals in frogs. *J Evol Biol.* 33(12): 1749-1757. <https://doi.org/10.1111/jeb.13713>
- Nicholls JA, Goldizen AW. 2006. Habitat type and density influence vocal design in satin bowerbirds. *J Anim Ecol.* 75: 549-558. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2006.01075.x>
- Nemeth E, Dabelsteen T, Pedersen SB, Winkler H. 2006. Rainforests as concert halls for birds: Are reverberations improving sound transmission of long song elements?. *J Acoust Soc Am.* 119(1): 620-626. <https://doi.org/10.1121/1.2139072>
- Odendaal FJ, Bull CM, Telford SR. 1986. Influence of the acoustic environment on the distribution of the frog *Ranidella riparia*. *Anim Behav.* 34:1836–1843. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(86\)80269-X](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(86)80269-X)
- Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlinn D, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, et al. 2020. Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-7. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Ord TJ, Charles GK, Hofer RK. 2010. The Evolution of Alternative Adaptive Strategies for Effective Communication in Noisy Environments. *Am Nat.* 177 (1): 54-64.

- Palumbi SR. 1996. Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. In: Hillis, D.M., Moritz, C., Mable, B.K, editors. *Molecular Systematics*. Sunderland (MA): Sinauer & Associates Inc.; p. 205–247.
- Panhuis TM, Butlin R, Zuk M, Tregenza T. 2001. Sexual selection and speciation. *Trends Ecol Evol*. 16 (7): 364-371. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(01\)02160-7](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(01)02160-7)
- Paradis E, Schliep K. 2019. Ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R. *Bioinform*. 35: 526-528.
- Pauly GB, Bernal XE, Rand AS, Ryan MJ. 2006. The vocal sac increases call rate in the Túngara frog *Physalaemus pustulosus*. *Physiol Biochem Zool*. 79: 708-719. <https://doi.org/10.1086/504613>
- Penna M, Plaza A, Moreno-Gómez FN. 2013. Severe constraints for sound communication in a frog from the South American temperate forest. *J Comp Physiol*. 199: 723-733. <https://doi.org/10.1007/s00359-013-0831-9>
- QGIS.org, 2021. QGIS Geographic Information System. QGIS Association. <http://www.qgis.org>
- R Core Team. 2019. R: A language and environment for statistical computing. Vienna (Austria): R Foundation for Statistical Computing. Version 3.1.2. [accessed 2020 Mar 1]. <http://www.R-project.org/>.
- Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, Baele G, Suchard MA. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Syst Biol*. 67(5):901-904. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>
- Riede T, Goller F. 2014. Morphological basis for the evolution of acoustic diversity in oscine songbirds. *Proc R Soc*. 281: 20132306. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.2306>
- Röhr DL, Camurugi F, Martinez PA, Sousa-Lima RS, Juncá FA, Garda AA. 2020. Habitat-dependent advertisement call variation in the monkey frog *Phyllomedusa nordestina*. *Ethol*. 00: 1-9. <https://doi.org/10.1111/eth.13017>
- Ryan MJ. 1986. Neuroanatomy influences speciation rates among anurans. *Proc National Acad Sci USA*. 83:1379–1382. <https://doi.org/10.1073/pnas.83.5.1379>
- Ryan MJ. 1998. Constraints and patterns in the evolution of anuran acoustic communication In: Fritzch B, Ryan MJ, Wilczynski W, Hetherington TE, Walkowiak W, editors. *Evolution of the amphibian auditory system*. New York: Wiley; p. 637-677.
- Simões PI, Lima AP, Magnusson WE, Hödl W, Amézquita A. 2008. Acoustic and Morphological Differentiation in the Frog *Allobates femoralis*: Relationships with the Upper Madeira River and Other Potential Geological Barriers. *Biotropica*. 40(5): 607-614. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2008.00416.x>

Salvático EF. 2014. O estudo da hipótese da adaptação acústica em fina escala utilizando anuro amazônico [master's thesis]. Manaus: Amazonas: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia.

Sandoval L, Dabelsteen T, Mennill DJ. 2015. Transmission characteristics of solo songs and duets in a neotropical thicket habitat specialist bird. *Bioacoustics*. 24(3): 289-306. <http://dx.doi.org/10.1080/09524622.2015.1076346>

Sandoval L, Barrantes G, García-Rodríguez A. 2021. Male orientation on vocalization perches could optimize acoustic signal transmission in anurans. *Ethol*. 127: 50-58. <https://doi.org/10.1111/eth.13097>

Schiatti J, Martins D, Emilio T, Souza PF, Levis C, Baccaro FB, Pinto LPV, Moulatlet GM, Stark SC, Sarmiento K et al. 2016. Forest structure along a 600 km transect of natural disturbances and seasonality gradients in central-southern Amazonia. *J Ecol*. 104: 1335-1346. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12596>

Sebastián-González E, van Aardt J, Sacca K, Barbosa JM, Kelbe D, Hart PJ. 2018. Testing the acoustic adaptation hypothesis with native and introduced birds in Hawaiian forests. *J Ornitol*. 159: 827-838. <https://doi.org/10.1007/s10336-018-1542-3>

Sugai LSM, LLusia D, Siqueira T, Silva TSF. Revisiting the drivers of acoustic similarities in tropical anuran assemblages. 2021. *Ecol*. 102(7): e03380. <https://doi.org/10.1002/ecy.3380>

Sulbarán MDE, Simões PI, Gonzalez-Voyer A, Castroviejo-Fisher S. 2019. Neotropical frogs and mating songs: The evolution of advertisement calls in glassfrogs. *Evol Biol*. 32: 163-176. <https://doi.org/10.1111/jeb.13406>

Suthers RA, Goller F, Pytte C. 1999. The neuromuscular control of birdsong. *R Soc*. 354: 927-939. <https://dx.doi.org/10.1098%2Frstb.1999.0444>

Symonds MRE, Blomberg SP. 2014. A primer on phylogenetic generalised least squares. In: Garamszegi L, ed. *Modern phylogenetic comparative methods and their application in evolutionary biology*. Berlin/Heidelberg, Germany: Springer, 105–130. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-43550-2>

Tonini JFR, Provete DB, Maciel NM, Morais AR, Goutte S, Toledo LF, Pyron RA. 2020. Allometric escape from acoustic constraints is rare for frog calls. *Ecol Evol*. 10(8): 3686-3695. <https://doi.org/10.1002/ece3.6155>

Trifinopoulos J, Nguyen L, Haeseler AV, Minh BQ. 2016. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis. *Nuclei Acids Res*. 44: 232–235. <https://doi.org/10.1093/nar/gkw256>

Veloso HP, Rangel Filho ALR, Lima JCA. 1991. *Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal*. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro.

- Wallschläger D. 1980. Correlation of song frequency and body weight in passerine birds. *Experiment*. 36: 69-94.
- Vidal-García M, Byrne PG, Roberts JD, Keogh JS. 2014. The role of phylogeny and ecology in shaping morphology in 21 genera and 127 species of Australo-Papuan myobatrachid frogs. *J Evol Biol*. 27: 181-192. <https://doi.org/10.1111/jeb.12292>
- Wells KD, Schwartz JJ. 2007. The Behavioral ecology of anuran communication. In: Narins PM, Feng AS, Fay RR, Popper AN, editors. *Hearing and Sound Communication in Amphibians*. New York: Springer-Verlag; p. 44-86.
- Wells KD. 2007. *The Ecology and Behavior of Amphibians*. University of Chicago Press, Chicago, Illinois, USA.
- Ziegler L, Arim M, Narins PM, Angeles L. 2011. Linking amphibian call structure to the environment: the interplay between phenotypic flexibility and individual attributes. *Behav Ecol*. 22: 550-526. <https://doi.org/10.1093/beheco/arr011>
- Zimmerman BL. 1983. A Comparison of Structural Features of Calls of Open and Forest Habitat Frog Species in the Central Amazon. *Herpetologica*. 39(3): 235–246.
- Zhao L, Santos JC, Wang J, Ran J, Tang Y, Cui J. 2021. Noise constrains the evolution of call frequency contours in flowing water frogs: a comparative analysis in two clades. *Front Zool*. 18-37. <https://doi.org/10.1186/s12983-021-00423-y>
- Zweifel RG. 1959. Effect of temperature on call of the frog, *Bombina variegata*. *Copeia*. 322-327. <https://doi.org/10.2307/1439890>