UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

Evolução do canto de anúncio nos gêneros *Adenomera* e *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae, Leptodacylinae), com aplicação taxonômica a populações e espécies de Leptodactylinae

Thiago Ribeiro de Carvalho Tavares

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências, área: BIOLOGIA COMPARADA.

RIBEIRÃO PRETO - SP
2017

THIAGO RIBEIRO DE CARVALHO TAVARES

Evolução do canto de anúncio nos gêneros *Adenomera* e *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae, Leptodacylinae), com aplicação taxonômica a populações e espécies de Leptodactylinae

Versão Corrigida

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Biologia Comparada.

Orientador: Prof. Dr. Ariovaldo Antonio Giaretta

RIBEIRÃO PRETO - SP
2017

Não autorizo a reprodução e divulgação deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, uma vez que os dados aqui contidos são inéditos.

Carvalho, Thiago Ribeiro
Evolução do canto de anúncio nos gêneros *Adenomera* e *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae, Leptodacylinae), com aplicação taxonômica a populações e espécies de Leptodactylinae, 2017.
260 p. : il. ; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Biologia Comparada.
Versão corrigida
Orientador: Giaretta, Ariovaldo Antonio.

1. Anfíbios. 2. Biodiversidade. 3. Taxonomia integrativa. 4. Comunicação animal. 5. Sinais acústicos. 6. Região Neotropical. 7. Métodos comparativos filogenéticos. 8. Macroevolução.

Nome: Thiago Ribeiro de Carvalho Tavares

Título: Evolução do canto de anúncio nos gêneros *Adenomera* e *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae, Leptodacylinae), com aplicação taxonômica a populações e espécies de Leptodactylinae

Tese apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da USP, como parte das exigências para obtenção do título de Doutor em Ciências, área: BIOLOGIA COMPARADA.

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Dedico esse trabalho aos curiosos pela biodiversidade e entusiastas dos sons da natureza.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, tenho muito a agradecer à minha família, especialmente aos meus pais e irmão, pelo apoio incondicional e compreensão ao longo dessa trajetória acadêmica, que já totaliza mais de uma década, pois muitas vezes estive mais ausente do que presente, mas mesmo assim, sempre estiveram do meu lado.

À Letícia, que ao longo desses quase seis anos acompanhando de perto a minha história de vida, sempre esteve disposta e altruísta para me proporcionar seu tempo e energia e me oferecer coisas que por vezes me faltaram, paciência, tranquilidade e, acima de tudo, otimismo.

Aos meus avós pelas conversas e sabedoria do campo. Isso certamente contribuiu para o meu crescimento ao longo desse processo. Nessa simplicidade mora a minha paz.

Aos meus amigos, especialmente Eduardo A. B. y Garcia, Vinícius P. Diamantino e Flávio Jordok, com os quais pude contar em diversos momentos ou simplesmente quando precisei de bons ouvidos, ponderação, companhia e de outras perspectivas.

Ao meu orientador, Ariovaldo A. Giaretta, por ter acompanhado de perto a minha formação profissional e quem sempre me inspirou e influenciou positivamente em direção à busca pelo conhecimento científico, além de ter sido o meu maior exemplo de profissional apaixonado pela nossa profissão como biólogos. Agradeço também pelas inúmeras oportunidades, confiança e amizade.

Ao meu supervisor de estágio no exterior, Marcos Gridi-Papp, por ter aberto as portas de seu laboratório para me receber na Califórnia e ter despendido o seu tempo para me ensinar, orientar e ter sido um modelo de profissional e cientista. Aprendi muito com ele profissional e pessoalmente. Agradeço especialmente pelos *insights* e por me fazer enxergar *the big picture*.

À Kátia G. Facure pela grande disposição em me ajudar sempre que precisei ao longo dos mais de dez anos de convivência. Sou também muito grato pelas incontáveis discussões científicas e profissionais.

Aos colegas do laboratório, especialmente Lucas B. Martins e Bernardo F. V. Teixeira, pelo auxílio, trabalho em equipe, discussões, amizade. O meu obrigado, mas não menos importante, aos demais colegas de laboratório (Felipe S. Andrade, Isabelle A. Haga, Davi L. Bang e Izadora Vidigal), com os quais sempre tive uma ótima convivência e pude ter várias discussões científicas proveitosas.

Às dezenas (se não centenas) de colegas, professores e colaboradores na área que me auxiliaram de alguma forma. Deixo aqui os meus sinceros agradecimentos e já me desculpo por qualquer nome que não esteja aqui presente, pois estou certo de que a memória não permite que eu me lembre de todas as pessoas merecedoras: W. Ronald Heyer, Addison Wynn e James Pointdexter pelo envio de parte do acervo de gravações de Leptodactylinae da instituição Smithsonian (Washington, D.C.); Luis Felipe Toledo e Simone Dena pelo envio de gravações de Leptodactylinae do acervo da Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard (FNJV; Unicamp, Campinas, SP); Ariadne Angulo pelo envio de gravações de *Adenomera* do Peru e Bolívia, pela disponibilização de fotografias das séries tipo de *A. andreae* e *A. hylaedactyla*, e pelas dezenas e-mails trocados ao longo dos últimos anos, o que enriqueceu a discussão e fortaleceu as prioridades e projeções para o estudo desse grupo taxonômico; Carla S. Cassini e Thiago Gazoni pela confiança e envio de suas teses não publicadas, além de dados utilizados nas análises da tese; Pedro P. G. Taucce, Axel Kwet, Leandro O. Drummond e Diego J. Santana pelo envio de gravações de espécies de *Adenomera* do sul do Brasil e pelas informações de campo cedidas; Marcelo M. N. Kokubum e Marcelo Menin pelo envio de gravações de *Adenomera* da Amazônia brasileira; Igor J. Roberto pelo envio de gravações de *Adenomera* do nordeste brasileiro; Victor Zaracho pelo envio de gravações de *A. diptyx* do Paraguai; Philippe J. R. Kok pelo envio de gravações de *A. lutzi* da Guiana; Steffen Reichle pelo envio de gravação de *A. coca* da Bolívia; Antoine Fouquet pelo envio da topologia e informações acerca de algumas espécies candidatas de *Adenomera*; José Padial, Ignacio de la Riva, Morley Read, Christian Marty, Leandro O. Drummond, Renato Feio, Raul Maneyro, Marcelo N. C. Kokubum, Adrian Garda, Diego J. Santana, Rodrigo Lingnau, Christine Strüssmann, André Pansonato e Zaida Tárano, pelo envio de gravações e/ou espécie; Mariana L. Lyra pela disponibilização de uma árvore preliminar para o clado de *L. melanonotus*; Miguel T. Rodrigues, Felipe S. Leite, Priscila Azarak e Adrian A. Garda pelo envio de amostras de tecido de *Leptodactylus*; Albertina P. Lima pelo envio de amostras de tecido de *Adenomera*; Rafael O. De Sá pelo envio de algumas informações referentes à filogenia de

Leptodactylus publicada por ele e colaboradores; Francisco Dal Vechio pelo auxílio com a identificação de alguns espécimes; Karin R. Seger e Luciana B. Lourenço pela parceria e empenho em estudos com *Leptodactylus*; Eduardo A. B. y Garcia pelo auxílio com os mapas.

Ao Santiago R. Ron e à Yerka Sagredo por terem me recebido em Quito (Equador), especialmente ao Santiago pela disponibilização de dados para Leptodactylinae do Equador; Célio F. B. Haddad, Luis Felipe Toledo, Karina Rebelo, José P. Pombal Jr., Hussam Zaher, Taran Grant, Guarino Colli, Fernanda Werneck, Ariane Silva, Marcelo Menin, Marcelo J. Sturaro, Marinus Hoogmoed, Teresa C. S. Ávila Pires, Reuber A. Brandão, Natan Maciel, Paulo C. A. Garcia, André Pansonato, Joice Farias, Priscila Azarak, Diego J. Santana, Sarah Mângia, por terem me recebido como curadores ou funcionários de coleções zoológicas e/ou nos municípios onde residem e oferecendo infraestrutura e companhia em campo.

À Manoela W. Cardoso (Museu Nacional do Rio de Janeiro, MNRJ) pelo envio de fotografias e medidas dos síntipos de *L. intermedius*; Ned Gilmore (Academy of Natural Sciences of Philadelphia, ANSP) pelo envio de fotografias e medidas do holótipo *L. brevipes*.

Ao programa de pós-graduação em Biologia Comparada pela concessão do prazo extrarregular.

Agradecimentos especiais à secretária do programa de pós-graduação, Vera C. C. de Lucca, pelo exemplo de diligência, envolvimento, e profissionalismo. Graças a ela, muitos (mais) quilômetros de viagem foram evitados.

Ao curador das coleções zoológicas de vertebrados da Universidade Federal de Uberlândia, Douglas S. Riff, pelo acesso à coleção e infraestrutura da sala anexa do prédio, e pelas discussões ao longo desse tempo de convivência.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão de auxílio na forma bolsa durante a vigência do doutorado (n° processo 2012/15763-7) e de bolsa de estágio de pesquisa no exterior (BEPE; n° processo 2015/13404-8). À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio na forma de bolsa durante os primeiros dois meses de vigência do doutorado.

Ao Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade (ICMBio) pela concessão de licenças de coleta durante a vigência do meu projeto de pesquisa através do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (SISBIO: licença n° 30059).

“Uso a palavra para compor meus silêncios.
Não gosto das palavras
fatigadas de informar.
Dou mais respeito
às que vivem de barriga no chão
tipo água pedra sapo.
Entendo bem o sotaque das águas.
Dou respeito às coisas desimportantes
e aos seres desimportantes.
Prezo insetos mais que aviões.
Prezo a velocidade
das tartarugas mais que a dos mísseis.
Tenho em mim esse atraso de nascença.
Eu fui aparelhado
para gostar de passarinhos.
Tenho abundância de ser feliz por isso.
Meu quintal é maior do que o mundo.
Sou um apanhador de desperdícios:
Amo os restos
como as boas moscas.
Queria que a minha voz tivesse um formato de
canto.
Porque eu não sou da informática:
eu sou da invencionática.
Só uso a palavra para compor meus silêncios.”

O apanhador de desperdícios (Manoel de Barros)

RESUMO

CARVALHO, Thiago Ribeiro. **Evolução do canto de anúncio nos gêneros *Adenomera* e *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae, Leptodacylinae), com aplicação taxonômica a populações e espécies de Leptodactylinae**. 2017. 257 p. Tese (doutorado em Biologia Comparada) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, 2017.

As vocalizações em anuros são comumente conspícuas e, até certo ponto, estereotipadas. Nesse grupo, o principal sinal acústico emitido por machos (canto de anúncio) basicamente codifica dois tipos de informação: a atração de fêmeas coespecíficas e o anúncio da posição do macho em atividade de vocalização, especialmente relevante na orientação espacial e delimitação de sítios de vocalização em espécies territoriais. Mais modernamente, com o devenvolvimento de métodos computacionais para incorporar a informação filogenética disponível para um dado grupo de organismos, tornou-se factível explorar tendências evolutivas e testar hipóteses adaptivas para de maneira mais apropriada, levando em conta a dependência filogenética dos táxons. Leptodactylinae é um grupo de anuros Neotropicais rico em espécies (ca. 95 spp.), cuja distribuição está essencialmente compreendida na região Neotropical. Esse táxon apresenta uma diversidade notável de vocalizações. A diversidade de padrões acústicos em Leptodactylidae por si só ressalta o potencial desse táxon representar um bom modelo para estudos focados no entendimento dos padrões e processos macroevolutivos envolvidos na evolução acústica nesse grupo de vertebrados. Nesse estudo, foi realizada uma revisão detalhada dos sinais acústicos reprodutivos, i.e. canto de anúncio, pela primeira vez analisados para esse táxon através de procedimentos e configurações padronizadas e com quantificações automatizadas. Os resultados das análises acústicas foram então associados aos padrões morfológicos na investigação dos padrões de diversidade críptica e reavaliação taxonômica de algumas populações e espécies em Leptodactylinae, além da abordagem comparativa a partir dos resultados obtidos das análises acústicas a fim de explorar as principais tendências e processos evolutivos dos sinais acústicos nesse grupo de anuros. Os resultados revelaram que existem diferentes padrões de diferenciação fenotípica nesse táxon, apontando para a necessidade de revisões taxonômicas em diferentes clados de Leptodactylinae, com resultados contundentes para o clado *L. melanonotus* (a reavaliação de sinônimos juniores nesse clado indicaram que duas espécies devem ser revalidadas) e

Adenomera (reconhecimento de diversidade críptica em *A. hylaedactyla* com base em evidência acústica). A exploração de métodos comparativos filogenéticos relevou tendências evolutivas interessantes, como, por exemplo, os surgimentos e desaparecimentos recorrentes de estruturas temporais (pulsos) e mudanças acentuadas na estrutura espectral dos sinais acústicos (deslocamento da frequência fundamental em algumas espécies de *Adenomera*), tais fenômenos sem relação aparente com tamanho corporal ou estrutura dos habitats ocupados por essas espécies. Os dados acústicos oriundos desse estudo se mostraram eficazes nas resoluções taxonômicas em várias espécies de Leptodactylinae. Estudos futuros focando em aspectos da morfologia do aparato vocal, e biomecânica de produção de som, podem informativos acerca do entendimento dos processos envolvidos em distintos padrões acústicos reconhecidos em Leptodactylinae.

Palavras-chave: Anfíbios. Biodiversidade. Taxonomia integrativa. Comunicação animal. Sinais acústicos. Região Neotropical. Métodos Comparativos Filogenéticos. Macroevolução.

ABSTRACT

CARVALHO, Thiago Ribeiro. **Evolution of advertisement call in the genera *Adenomera* and *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae, Leptodacylinae), with taxonomic application to populations and species within Leptodactylinae**. 2017. 257 p. Tese (doutorado em Biologia Comparada) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, São Paulo, 2017.

In anurans, vocalizations are usually conspicuous and stereotyped to some extent. In this group, the major acoustic signal broadcast by males (advertisement signal/call) basically encodes two kinds of information: the attraction of conspecific females and the advertisement of the position of a calling male, maintaining male spacing functioning as an auditory cue in the delimitation of calling sites in territorial species. More recently, the development of computational methods as a means of incorporation of phylogenetic information available for a given group of organisms allowed scientists to explore evolutionary trends and to test for adaptative hypotheses more properly, taking into consideration phylogenetic dependence among taxa. Leptodactylinae is a species-rich taxon (ca. 95 spp.), whose distribution encompasses the Neotropical region. This frog group exhibits a remarkable diversity of vocalizations. This pattern in Leptodactylinae draws attention to the fact that this group could be a promising model organism to studies focused on macroevolutionary patterns and processes involved in the acoustic evolution in this vertebrate group. In the present study, a comprehensive acoustic review was conducted, and it was the first time for this group that the analytical procedures and standardized settings were employed in an automated fashion for the quantification of acoustic traits. The results of the acoustic analysis was then associated with morphological patterns as a means to investigate the patterns of cryptic diversity and taxonomic reappraisals for some populations and species, as well as the application of comparative methods from the results obtained to explore the major evolutionary trends and processes of acoustic traits in this frog group. The results revealed that there are distinctive patterns of phenotypic differentiation present across Leptodactylinae clades, which indicate that taxonomic reassessments are required, particularly in the *L. melanonotus* clade (revaluation of the junior synonyms showed that two species should be relavalidated) and *Adenomera* (cryptic diversity was uncovered under the name *A. hylaedactyla* based on acoustic evidence). The phylogenetic comparative methods recovered interesting evolutionary

trends as, for instance, the convergent appearances and losses of structures related to the time domain (pulses) and remarkable changes in the frequency domain (doubling of the fundamental frequency in some species of *Adenomera*), both phenomena being apparently unrelated to differences in body size or calling habitats. The acoustic data gathered here was efficient in species discrimination and should represent a good line of evidence to address species-level taxonomy in Leptodactylinae. Future research focused on aspects of the vocal apparatus and the mechanisms of sound production might tell us more about the evolutionary processes involved in the distinctive acoustic patterns that were recognized in Leptodactylinae.

Keywords: Amphibians. Biodiversity. Integrative taxonomy. Animal communication. Acoustic signals. Neotropical region. Phylogenetic comparative methods. Macroevolution.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....23
2 REFERÊNCIAS.....25

CAPÍTULO 1 – Diversidade fenotípica e evolução dos sinais acústicos em *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae, Leptodactylinae).....29
1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO TÁXON MODELO: *ADENOMERA*.....31
2 OBJETIVOS.....34
3 METODOLOGIA.....35
3.1 Localidades de coleta de dados em campo.....35
3.2 Morfologia externa, morfometria e padrões de coloração: terminologia, coleta e análise de dados.....37
3.3 Bioacústica: conceitos, terminologia e procedimentos analíticos.....38
3.4 Análises estatísticas.....49
3.5 Métodos Comparativos Filogenéticos (MCFs).....50
4 RESULTADOS.....54
4.1 Morfologia externa e padrões de coloração.....54
4.2 Caracterização acústica das espécies.....56
4.3 Padrões de variação em nível individual, populacional e específico.....84
4.4 Revisão taxonômica do par de espécies *Adenomera andreae—A. hylaedactyla*.....100
4.5 Padrões macroevolutivos dos sinais acústicos em *Adenomera*.....111
5 DISCUSSÃO.....120
5.1 Recaracterização acústica, reavaliação das diagnoses de espécies e mudanças taxonômicas futuras.....120
5.2 Caracteres acústicos, tamanho corporal e habitat de vocalização sob abordagem comparativa.....125
6 PROJEÇÕES PARA ESTUDOS FUTUROS.....128
7 REFERÊNCIAS.....130

CAPÍTULO 2 – Diversidade fenotípica e evolução dos sinais acústicos em *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae, Leptodactylinae).....137
1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO TÁXON MODELO: *LEPTODACTYLUS*.....139
2 OBJETIVOS.....141

3 METODOLOGIA.....142
3.1 Localidades de coleta de dados em campo.....142
3.2 Morfologia externa, morfometria e padrões de coloração: terminologia, coleta e análise de dados.....145
3.3 Bioacústica: conceitos, terminologia e procedimentos analíticos.....146
3.4 Métodos Comparativos Filogenéticos.....157
4 RESULTADOS.....159
4.1 Caracterização acústica das espécies.....159
4.2 Padrões fenotípicos: vocalizações, morfologia e padrões de coloração.....194
4.3 Revisão taxonômica de *Leptodactylus petersii*.....202
4.4 Diversidade críptica e padrões de diferenciação fenotípica e genética: estudo de caso em *Leptodactylus cunicularius*.....218
4.5 Padrões macroevolutivos dos sinais acústicos em *Leptodactylus*.....226
5 DISCUSSÃO.....232
5.1 Recaracterização acústica, reavaliação das diagnoses de espécies e mudanças taxonômicas futuras.....232
5.2 Padrões de evolução acústica em *Leptodactylus*.....235
6 REFERÊNCIAS.....237

CONCLUSÃO FINAL.....244
REFERÊNCIAS.....246
APÊNDICES.....247
Apêndice A – Espécimes examinados.....247
Apêndice B – Médias individuais de caracteres dos cantos de *A. cotuba* e *A. juikitam*.....252
Apêndice C – Escores das ACPs acústicas.....253
Apêndice D – Carregamentos das variáveis nas ACPs acústicas.....256
Apêndice E – Escores das ACPs morfométrica.....258
Apêndice F – Carregamento das variáveis nas ACPs morfométricas.....260

1 INTRODUÇÃO GERAL

A evolução do comportamento tem sido um dos focos principais em estudos etológicos há muitas décadas (MILNE; MILNE, 1939; JOHNSGARD, 1961; CRANE, 1966; OTTE, 1970). Mais recentemente, estudos comparativos sob uma abordagem evolutiva começaram a ser cada vez mais explorados (BROOKS; MCLENNAN, 1991), principalmente com o surgimento de métodos comparativos filogenéticos mais robustos (HARVEY; PAGEL, 1991). Através destes métodos, padrões de evolução comportamental puderam ser mapeados em filogenias, possibilitando, assim, a reavaliação de estudos etológicos clássicos levando em conta a história evolutiva dos organismos, assim como testes de hipóteses adaptativas (FELSENSTEIN, 1985; MCLENNAN et al., 1988; BAUM; LARSON, 1991).

Tendências evolutivas podem ser identificadas através de Métodos Comparativos Filogenéticos (MCFs) de um conjunto de táxons. Esses caracteres incluem descrições de caracteres fenotípicos, bem como do ambiente dos organismos (HARVEY; PAGEL, 1991). Através de MCFs é possível, entre outras aplicações, i) detectar o sinal filogenético de caracteres ou conjunto deles, que pode ser brevemente definido como a tendência de que espécies mais próximas filogeneticamente sejam mais semelhantes entre si do que ao acaso; ii) distinguir origens evolutivamente independentes de estados de caráter (homoplasias) de casos de semelhança por descendência (homologias); iii) testar mudanças evolutivas correlacionadas entre caracteres, e, por exemplo, associações entre os caracteres e o informações ecológicas ao longo da filogenia; iv) explorar modelos evolutivos distintos buscando a melhor hipótese de explicação para a mudanças evolutivas de um caráter e seus processos evolutivos subjacentes (DINIZ-FILHO, 2000; BROOKS; ORD; MARTINS, 2006; MÜNKEMÜLLER et al.; 2012).

A importância da comunicação acústica em estudos de evolução comportamental e de sistemas de comunicação tem sido extensivamente documentada (BRADBURY; VEHRENCAMP, 1998). Em anfíbios anuros, o principal sinal acústico vocal emitido por machos (sinal de anúncio) transmite dois tipos de informação basicamente: a receptividade sexual a fêmeas coespecíficas (BLAIR, 1958; WELLS, 1977), e o anúncio da posição do macho vocalizando, auxiliando na manutenção de espaçamento entre eles e afastando e intimidando machos coespecíficos competidores; nesse último caso, especialmente para espécies com comportamento territorial (GERHARDT, 1994; NARINS et al., 2007; WELLS, 2007). Características temporais desse tipo de sinal acústico são consideradas mais suscetíveis

à atuação de seleção sexual, uma vez que elas possuem alta variabilidade (propriedades dinâmicas; GERHARDT, 1991). Por outro lado, características espectrais tendem a ser mais conservadas ou até mesmo estereotipadas entre cantos de um indivíduo ou entre indivíduos (propriedades estáticas; GERHARDT, 1991), consideradas importantes parâmeteros de reconhecimento específico (GERHARDT, 1991).

Os sinais acústicos (vocalizações) de anuros são, na grande maioria das espécies, o principal sinal emitido pelos machos em contexto reprodutivo (WELLS, 2007) e representam um bom modelo para estudos comparativos e evolução comportamental (COCROFT; RYAN, 1995; ROBILLARD et al., 2006; ERDTMANN; AMÉZQUITA, 2009). A comunicação acústica nesse grupo tem sido estudada principalmente a partir da década de 1950, com o advento de equipamentos portáteis para gravação em campo (BLAIR, 1955; FOUQUETTE, 1960; LITTLEJOHN, 1965; DUELLMAN, 1967).

Parte do interesse científico deve-se ao fato desse grupo possuir geralmente vocalizações conspícuas e altamente estereotipadas, e da percepção geral de que a estrutura dos sinais acústicos muito provavelmente não é influenciada por experiência de aprendizagem. Dessa forma, táxons desse grupo de vertebrados representam potencialmente organismos modelo apropriados para estudos multidisciplinares pautados em várias temáticas, tais como seleção sexual, especiação e de mecanismos de produção, reconhecimento e localização de sinais acústicos, além da aplicação a estudos taxonômicos e sistemáticos (RYAN, 1988; 2001; GERHARDT; HUBER, 2002; WALKOWIAK, 2006; NARINS et al., 2007).

Leptodactylidae é um táxon rico em espécies (> 200), com distribuição essencialmente compreendida na região Neotropical (FROST, 2017). Esse grupo apresenta uma diversidade notável de vocalizações, por exemplo, envolvendo padrões distintos de modulação em amplitude e frequência, mesmo em espécies proximamente relacionadas ou até mesmo crípticas (HEYER et al., 1996; FUNK et al., 2008; CARVALHO; GIARETTA, 2013a). A diversidade de vocalizações em Leptodactylidae por si só ressalta o potencial para estudos focados nos processos evolutivos promotores da alta variabilidade de sinais acústicos no grupo.

2 REFERÊNCIAS

AMPHIBIAN SPECIES OF THE WORLD: AN ONLINE REFERENCE, VERSION 6.0. Produced by Darrel R. Frost. American Museum of Natural History, New York. Disponível em: <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>. Acesso em: 10 jan. 2017.

BAUM, D. A.; LARSON, A. Adaptation reviewed: a phylogenetic methodology for studying character macroevolution. **Systematic Zoology**, v. 40, n. 1, p. 1-18, 1991.

BLAIR, W. F. Mating call and stage of speciation in the *Microbyla olivacea-M. carolinensis* complex. **Evolution**, v. 9, n. 4, p. 469-480, 1955.

BLAIR, W. F. Mating call in the speciation of anuran amphibians. **The American Naturalist,** v. 92, n. 862, p. 27-51, 1958.

BRADBURY, J. W.; VEHRENCAMP, S. **Principles in animal communication**. 1st ed. Sunderland: Sinauer Associates, 1998, 882 p.

BROOKS, D. R.; MCLENNAN, D. A. **Phylogeny, ecology, and behavior: a research program in comparative biology**. Chicago: The University of Chicago Press, 1991, 434 p.

CARVALHO, T. R.; GIARETTA, A. A. Taxonomic circumscription of *Adenomera martinezi* (Bokermann, 1956) (Anura: Leptodactylidae: Leptodactylinae) with the recognition of a new cryptic taxon through a bioacoustic approach. **Zootaxa**, v. 3701, n. 2, p. 207-237, 2013.

COCROFT, R. B.; RYAN, M. J. Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs. **Animal Behaviour**, v. 49, n. 2, p. 283-303, 1995.

CRANE, J. Combat, display and ritualization in fiddler crabs (Ocypodidae, genus *Uca*). **Philosophical transactions of the Royal Society of London, Biological Sciences**, v. 251, n. 772, p. 459-472, 1966.

DINIZ-FILHO, J. A. F. **Métodos Filogenéticos Comparativos.** Ribeirão Preto: Holos Editora, 2000. 120 p.

DUELLMAN, W. E. Isolating mechanisms in Costa Rican hylid frogs. **Herpetologica**, v. 23, n. 3, p. 169-183, 1967.

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

FELSENSTEIN, J. Phylogenies and comparative methods. **The American Naturalist**, v. 125, n. 1, p. 1-15, 1985.

FOUQUETTE, M. J., JR. Isolating mechanisms in three sympatric treefrogs in the canal zone. **Evolution**, v. 14, n. 4, p. 484-497, 1960.

FUNK, W. C.; ANGULO, A.; CALDWELL, J. P.; RYAN, M. J.; CANNATELLA, D. C. Comparison of morphology and calls of two cryptic species of *Physalaemus* (Anura: Leiuperidae). **Herpetologica**, v. 64, n. 3, p. 290-304, 2008.

GERHARDT, H. C. Female mate choice in treefrogs:static and dynamic acoustic criteria. **Animal Behaviour**, v. 42, p. 615-635, 1991.

GERHARDT, H. C. The evolution of vocalization in frogs and toads. **Annual review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 25, n. 1, p. 293-324, 1994.

GERHARDT, H. C.; HUBER, F. **Acoustic communication in insects and anurans: common problems and diverse solutions**. Chicago and London: University of Chicago Press, 2002. 531 p.

HARVEY, P. H.; PAGEL, M. D. **The comparative method in evolutionary biology.** Oxford: Oxford University Press, 1991. 248 p.

HEYER, W. R.; GARCÍA-LOPEZ, J. M.; CARDOSO, A. J. Advertisement call variation in the *Leptodactylus mystaceus* (Amphibia: Leptodactylidae) species complex with a description of a new sibling species. **Amphibia-Reptilia**, v. 17, n. 1, p. 7-31, 1996.

JOHNSGARD, P. A. The taxonomy of the Anatidae – a behavioural analysis. **Ibis**, v. 103A, n. 1, p. 71-85, 1961.

LITTLEJOHN, M. J. Premating Isolation in the *Hyla ewingi* Complex (Anura: Hylidae). **Evolution,** v. 19, n. 2, p. 234-243, 1965.

MCLENNAN, D. A.; BROOKS, D. R.; MCPHAIL, J. D. The benefits of communication between comparative ethology and phylogenetic systematics: a case study using gasterosteid fishes. **Canadian Journal of Zoology**, v. 66, n. 10, p. 2177-2190, 1988.

MILNE, M. J.; MILNE, L. J. Evolutionary trends in caddids worms case construction. **Annals of the entomological society of America**, v. 32, n. 3, p. 533-542, 1939.

MÜNKEMÜLLER, T.; LAVERGNE, S.; BZEZNIK, B.; DRAY, S.; JOMBART, T.; SCHIFFERS, K.; THUILLER, W. How to measure and test phylogenetic signal. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 3, n. 4, p. 743-756, 2012.

ORD, T. J.; MARTINS, E. P. Tracing the origins of signal diversity in anole lizards: phylogenetic approaches to inferring the evolution of complex behaviour. **Animal Behaviour,** v. 71, n. 6, p. 1411-1429, 2006.

OTTE, D. A comparative study of communicative behavior in grasshoppers. **Miscellaneous publications, Museum of Zoology, University of Michigan**, v. 141, p. 1-168, 1970.

NARINS, P. M.; FENG, A. S.; FAY, R. R.; POPPER, A. N. **Hearing and Sound Communication in Amphibians.** New York: Springer, 2007. 362 p.

ROBILLARD, T.; HÖBEL, G; GERHARDT, H. C. Evolution of advertisement signals in North American hylid frogs: vocalizations as end-products of calling behavior. **Cladistics,** v. 22, n. 6, p. 533-545, 2006.

RYAN, M. J. Constraints and patterns in the evolution of anuran acoustic communication. In: FRITZSCH, B. (Ed.). **The evolution of amphibian auditory system**. New York: John Wiley and Sons, 1988. cap. 28, p. 637-677.

RYAN, M. J. **Anuran acoustic communication**. Washington: Smithsonian Institution Press, 2001. 252 p.

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

WALKOWIAK, Call production and neural basis of vocalization. In: NARINS, P.; FENG, A. S.; FAY, R. R.; POPPER, A. N. (Ed.). **Hearing and sound communication in amphibians**. New York: Springer, 2007, cap. 4, p. 87-112.

WELLS, K. D. **The ecology and behavior of amphibians.** Chicago and London: The University of Chicago Press, 2007. 1148 p.

CAPÍTULO 1 – DIVERSIDADE FENOTÍPICA E EVOLUÇÃO DOS SINAIS ACÚSTICOS EM *ADENOMERA* (ANURA, LEPTODACTYLIDAE, LEPTODACTYLINAE)

1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO TÁXON MODELO: *ADENOMERA*

Historicamente, Leptodactylidae é um táxon de anuros Neotropicais já abrigou muitos grupos diferentes, fazendo com que esse agrupamento, por muitas vezes, representasse um agrupamento polifilético (LYNCH, 1971; HEYER, 1975; RUVINSKY; MAXSON, 1996). Esse clado está atualmente mais bem estabelecido e corresponde a um táxon monofilético (FROST et al., 2006). Pyron e Weins (2011) reformularam as inter-relações dos três clados mais inclusivos de Leptodactylidae com base em dados moleculares: Leiuperinae, Leptodactylinae e Paratelmatobiinae. Fouquet et al. (2013) posicionaram filogeneticamente *Crossodactylodes* e *Rupirana* e propuseram o clado Crossodactylodinae para ambos, que foi sinonimizado a Paratelmatobiinae posteriormente (OHLER; DUBOIS, 2012; DUBOIS, 2013).

O táxon Leptodactylinae atualmente abriga 96 espécies, representado por espécies com distribuição desde a América do Norte (sul do Texas, EUA, e México), e ao longo de toda a extensão Neotropical, na América Central, ilhas do Caribe e América do Sul. A riqueza desse táxon é principalmente representada pelos gêneros *Leptodactylus* (74 spp.) e *Adenomera* (18 spp.) (FROST, 2017). O gênero *Leptodactylus* foi tradicionalmente classificado em cinco grupos fenéticos, principalmente com base em morfologia e comportamento (HEYER, 1969; MAXSON; HEYER, 1988): os grupos de *L. melanonotus*, *L. latrans* (anteriormente *L. ocellatus*), *L. pentadactylus*, *L. marmoratus* e *L. fuscus*. Pyron e Weins (2011) ressuscitaram o nome *Adenomera* Steindachner ao grupo de *L. marmoratus*, formando um clado com o gênero monotípico *Lithodytes* (Fitzinger, 1843). Essa classificação foi posteriormente corroborada por Fouquet et al. (2013, 2014), que estudaram a história evolutiva e divergência dos clados de *Adenomera*, associando-os com os padrões de distribuição, além de terem apontado para a riqueza subestimada contida no grupo.

O gênero *Adenomera* atualmente contém 18 espécies distribuídas em ambientes abertos e florestais a leste dos Andes (FROST, 2017). Adolpho Lutz (1930) foi o primeiro a unir espécies de *Adenomera* em um agrupamento (subgênero *Parvulus*) dentro de *Leptodactylus*: *L. (Parvulus) trivittatus* (LUTZ, 1926), atualmente sinônimo júnior de *A. marmorata* (HEYER, 1973), e *L. (Parvulus) nanus*. Subsequentemente, Parker (1932) indicou que o gênero *Adenomera* tinha prioridade por ter sido empregado primeiro e propôs o uso desse nome como subgênero de *Leptodactylus* ao invés de *Parvulus*. Heyer (1969a) seguiu as mudanças nomenclaturais propostas por Parker e alocou as espécies do subgênero *Adenomera*

ao grupo *L. marmoratus*; Heyer (1973) incluiu outras espécies ao grupo: *L. andreae*, *L. bokermanni*, *L. hylaedactylus* e *L. martinezi*. Contudo, em 1974, esse autor elevou o subgênero *Adenomera* ao ranking de gênero e propôs que, juntamente com o grupo formado por *Lithodytes lineatus* + *Leptodactylus discodactylus*, seria grupo irmão das outras espécies de *Leptodactylus*. A despeito da posição de *L. discodactylus*, o clado formado por *Adenomera* + *Lithodytes* é quase unânime na literatura atual concernente à sistemática desse grupo (PYRON; WIENS, 2011; FOUQUET et al., 2013, 2014).

Em *Adenomera*, foi dado interesse especial, no presente estudo, ao par de espécies *A. andreae*—*A. hylaedactyla*, curiosamente não intimamente relacionadas entre si no gênero (FOUQUET et al., 2014), cuja a ocorrência simpátrica está essencialmente restrita ao domínio amazônico (HEYER, 1973). Primeiramente, é importante ressaltar a dificuldade histórica de identificação das espécies de *Adenomera* e não é diferente com o par de espécies focais. Essas espécies são comumente identificadas erroneamente ao longo de sua vasta região de simpatria na Amazônia, fenômeno observado nas coleções zoológicas onde espécimes foram examinados para o presente estudo. Os erros recorrentes de identificação são, em parte, reflexo da similaridade morfológica e cromática em espécies do grupo, mesmo que não sejam necessariamente proximamente relacionadas. Com a integração de dados acústicos e genéticos, padrões de diversidade antes não reconhecidos ou mal estabelecidos têm sido revelados (ANGULO et al., 2003; BERNECK et al., 2008; KWET, 2007; CARVALHO; GIARETTA, 2013a,b).

É importante salientar que no caso do par de espécies supracitado, padrões morfológicos e de coloração foram estabelecidos na separação dessas espécies por Heyer (1973), e parte das características listadas parecem ser úteis na discriminação dessas espécies até hoje. Esse autor revisou dezenas de populações desse gênero de várias regiões e biomas da América do Sul em 1973, além de ter tido a oportunidade de acessar material tipo das espécies nominais e dos nomes de espécie que ele sinonimizou no mesmo trabalho. O problema taxonômico histórico desse par de espécies está atualmente em torno de dois pontos centrais: i) a inexatidão da localidade tipo de uma delas (*A. hylaedactyla*), descrita como uma região extensa delimitada por dois rios da Amazônia peruana/equatoriana (MALNATE, 1971); e ii) a possibilidade de que a série tipo da outra espécie (*A. andreae*), composta por quatro síntipos, contenha duas espécies distintas. Com o reconhecimento do problema histórico associado a essas espécies, uma revisão circunstanciada faz-se necessária. Esses pontos foram abordados em detalhe nesse capítulo.

2 OBJETIVOS

Os objetivos gerais desse capítulo foram descrever a diversidade de caracteres fenotípicos em *Adenomera*, um grupo de anuros Neotropicais, investigar os graus de associação/correlação entre caracteres acústicos e esses com tamanho corporal e habitats de vocalização, e revisar questões taxonômicas pertinentes relativas a esse táxon. Especificamente, esse capítulo teve como objetivos principais:

a) a caracterização detalhada dos padrões de diversidade das vocalizações de anúncio, morfologia externa e coloração em *Adenomera*, tendo como foco principal os dados acústicos;

b) a investigação de padrões de diversidade críptica no táxon, já reconhecidos em estudos anteriores;

c) a revisão das diagnoses e avaliação do *status* taxonômico de algumas espécies e populações pouco estudadas, com enfoque no par de espécies *A. andreae*—*A. hylaedactyla*;

d) o estudo da evolução de sinais acústicos em *Adenomera* através de métodos comparativos filogenéticos.

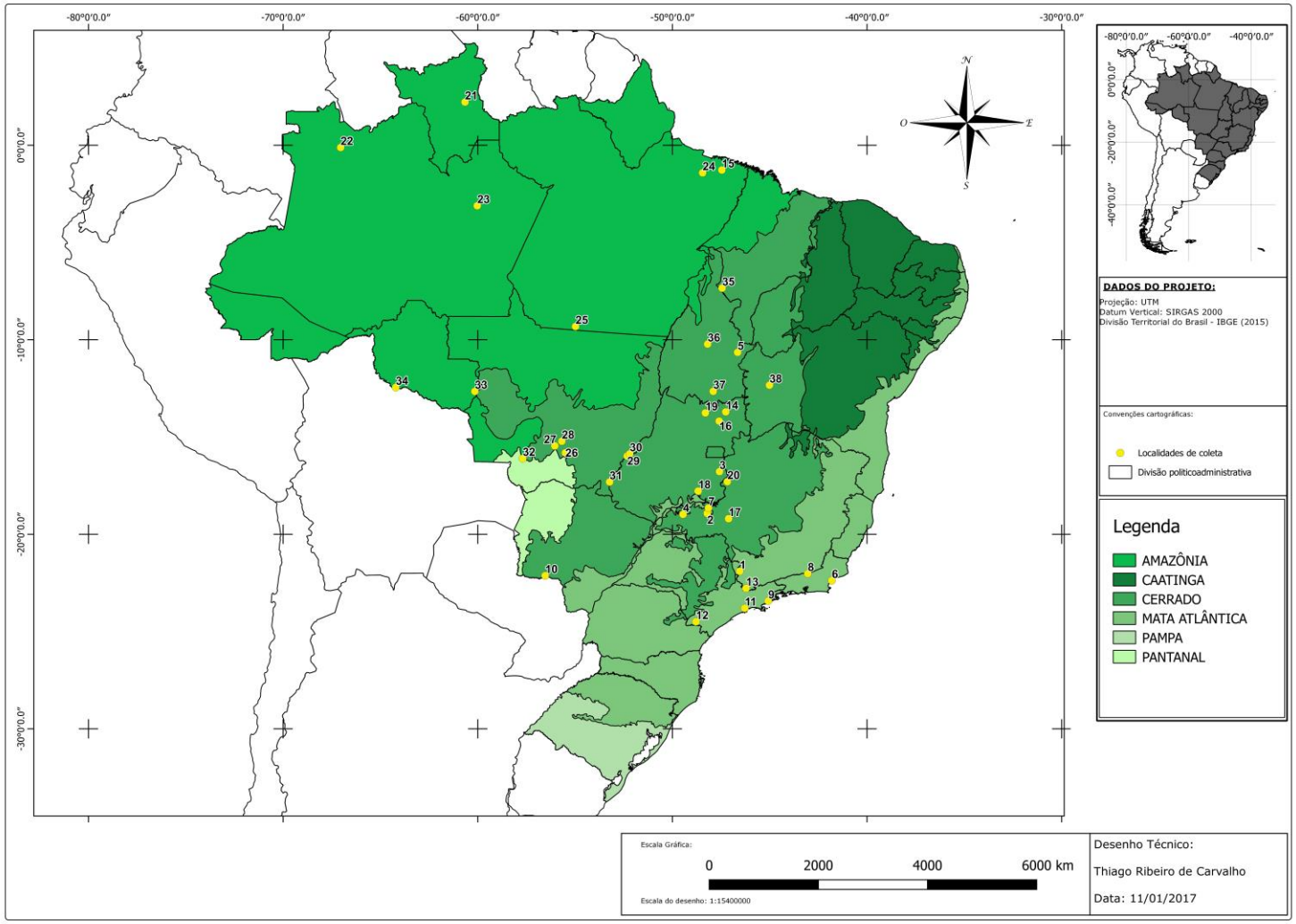
3 METODOLOGIA

3.1 Localidades de coleta de dados em campo

Localidades (preferencialmente as localidades tipo) de ocorrência do maior número possível de espécies de *Adenomera* foram visitadas para a coleta de espécimes e gravações de suas vocalizações. A Figura 1 apresenta apenas as localidades visitadas em campo e de onde foi possível a associação entre morfótipos e padrões acústicos; espécimes examinados em coleções zoológicas estão listados no Apêndice A.

As localidades (município, estado) de coleta, com as respectivas espécies coletadas ou espécies candidatas (sensu FOUQUET et al., 2014; CASSINI, 2015) nelas (números correspondentes às legendas da Figura 1) são: 1 – Poços de Caldas, MG (*A. thomei*); 2 – Uberlândia, MG (*A.* cf. *hylaedactyla*); 3 – Cristalina, GO (*A. saci*); 4 – Ituiutaba, MG (*A.* cf. *hylaedactyla*); 5 – Mateiros, TO (*A. juikitam, A. saci*); 6 – Macaé, RJ (*A.* cf. *marmorata*); 7 – Araguari, MG (*A.* cf. *hylaedactyla*); 8 – Chiador, MG (*Adenomera* sp. K); 9 – Ubatuba, SP (*Adenomera* sp. K); 10 – Bela Vista, MS (*A. diptyx*); 11 – Paranapiacaba (distrito de Santo André), SP (*Adenomera* sp. J); 12 – Apiaí, SP (*Adenomera* sp. S); 13 – Itapeva, MG (*A. thomei*); 14 – Teresina de Goiás, GO (*A. cotuba, A. juikitam*); 15 – Nova Timboteua, PA (*A. andreae*); 16 – Alto Paraíso de Goiás, GO (*A. saci*); 17 – Perdizes, MG (*A* cf. *hylaedactyla*); 18 – Caldas Novas, GO (*A* cf. *hylaedactyla*); 19 – Minaçu (*A. cotuba*); 20 – Paracatu (*A.* cf. *hylaedactyla*); 21 – Cantá, RR (*A. hylaedactyla*); 22 – São Gabriel da Cachoeira, AM (*A. hylaedactyla*); 23 – Manaus, AM (*A. andreae, A. hylaedactyla*); 24 – Belém, PA (*A. andreae, A.* aff. *hylaedactyla*); 25 – Novo Progresso, PA (*A. martinezi*); 26 – São Vicente (distrito de Santo Antônio de Leverger), MT (*A. diptyx*); 27 – Cuiabá, MT (*A. diptyx*); 28 – Chapada dos Guimarães, MT (*A. diptyx*); 29 – Pontal do Araguaia, MT (*A.* cf. *hylaedactyla, A. saci*); 30 – Barra do Garças, MT (*A. diptyx, A.* cf. *hylaedactyla*); 31 – Alto Araguaia, MT (*A. saci*); 32 – Cáceres, MT (*A. diptyx*); 33 – Vilhena, RO (*A.* aff. *hylaedactyla*); 34 – Costa Marques (*A. diptyx*); 35 – Carolina, MA (*A.* cf. *diptyx, A.* cf. *hylaedactyla, A. juikitam*); 36 – Palmas, TO (*A. cotuba, A. juikitam*); 37 – Paranã, TO (*A. cotuba*); 38 – São Desidério, BA (*A. cotuba*).

Figura 1 – Localidades de coleta de dados em campo para espécies de *Adenomera*, para as quais há associação entre morfótipo e vocalização.



3.2 Morfologia externa, morfometria e padrões de coloração: terminologia, coleta e análise de dados

Espécimes analisados estão depositados na Coleção de Anfíbios da Universidade Federal de Uberlândia (AAG-UFU), Museu de Biodiversidade do Cerrado, Uberlândia, Minas Gerais; Coleção de Anfíbios da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais; Coleção Herpetológica da Universidade Federal de Viçosa (MZUFV), Viçosa, Minas Gerais; Coleção de Anfíbios do Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Campinas (ZUEC-AMP), Campinas, São Paulo; Coleção Célio Fernando Baptista Haddad (CFBH), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rio Claro, São Paulo; Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), São Paulo, capital; Museu Nacional do Rio de Janeiro (MNRJ), Rio de Janeiro, capital; Coleção Herpetológica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA-H), Manaus, Amazonas; Coleção Herpetológica da Universidade de Brasília (CHUNB), Brasília, Distrito Federal; Coleção Herpetológica da Universidade Regional do Cariri (URCA-H), Crato, Ceará; Coleção Herpetológica da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (AAGARDA), Natal, Rio Grande do Norte; Coleção Zoológica de Vertebrados da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT-H); Coleção Herpetológica do Museu de Zoologia (QCAZ), Pontifícia Universidade Católica do Equador, Quito, Equador.

A análise dos caracteres morfológicos e de coloração seguiu basicamente as terminologias e definições propostas em Heyer (1973). Treze variáveis morfométricas foram medidas de indivíduos adultos em ocular micrométrica com escala de 10 mm (precisão 0,1 mm) acoplada em estereomicroscópio: CRC (comprimento rostro-cloacal), CF (comprimento do fêmur), CT (comprimento da tíbia), CTA (comprimento do tarso: distância entre o calcanhar, i.e. articulação tibio-tarsal, e a borda proximal do tubérculo metatarsal interno), CP (comprimento do pé), CAB (comprimento do antebraço: distância entre o ângulo do cotovelo e a borda proximal do tubérculo metacarpal externo), CM (comprimento da mão), CC (comprimento da cabeça), LC (largura da cabeça), DO (diâmetro do olho), DT (diâmetro do tímpano), DON (distância olho-narina), DEN (distância entre narinas). As variáveis com medidas superiores a 10 mm (CRC, CF, CT e CP) foram medidos com paquímetro digital (precisão 0,01 mm). A maioria das variáveis morfométricas foi medida de acordo com Heyer et al. (1990); três variáveis (DO, DT e DON) seguiram as definições de Watters et al. (2016); as variáveis comprimento e largura de cabeça (CC e LC, respectivamente) foram medidas da

seguinte forma: com o espécime em vista dorsal sob estereomiscroscópio, a LC foi medida no ponto de largura máxima da cabeça, que tende a coincidir com o ponto médio do diâmetro do da membrana timpânica. Assim, esse ponto foi estipulado como a altura da cabeça de onde a medida fosse aferida; para CC, do ponto médio do diâmetro da membrana timpânica à ponta do focinho.

Com base em algumas fotografias de espécimes preservados enviadas pelo Dr. Antoine Fouquet, juntamente com os padrões de distribuição em Fouquet et al. (2014), em comparação com os dados originais presentes aqui, parece claro que as espécies lá cidatas como candidatas "sp. H" e "sp. I" sejam coespecíficas a *A. cotuba* e *A. juikitam*, respectivamente (Apêndice A). Nas caracterizações e comparações a partir da seção Resultados, ambas as espécies candidatas foram tratadas como essas espécies.

3.3 Bioacústica: conceitos, terminologia e procedimentos analíticos

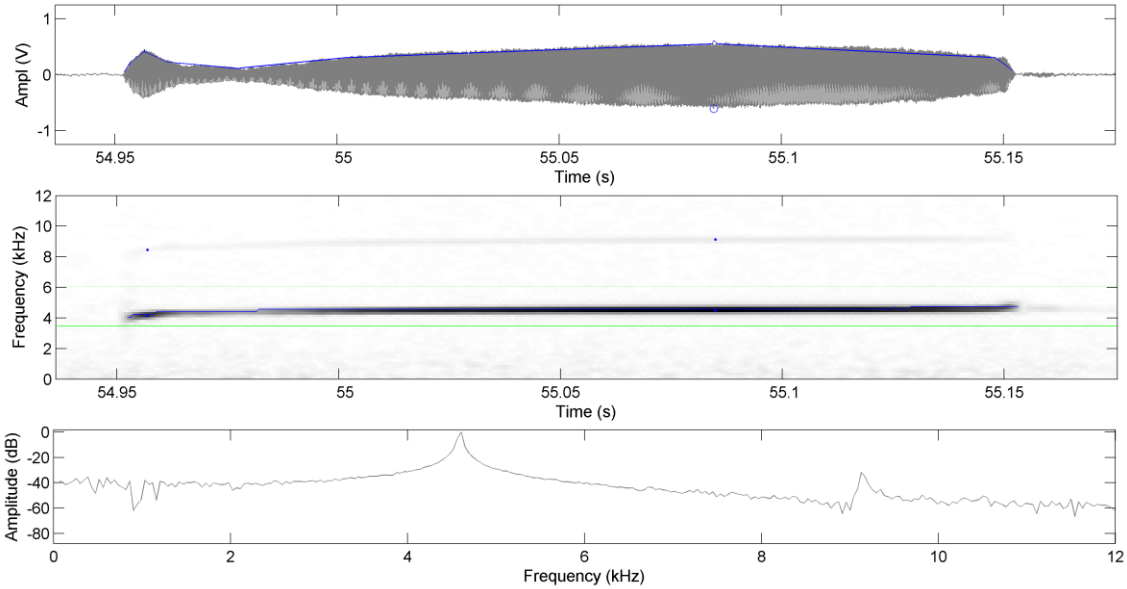
A unidade "canto" em *Adenomera* foi definida através de uma abordagem mecanística como um ciclo completo de expiração, sendo essas unidades homólogas do ponto de vista de produção de som (MCLISTER et al., 1995; ROBILLARD et al., 2006); "pulso" foi definido como resultante de um padrão de modulações de amplitude particulares (correspondentes a modulações sinusoidais de frequência), em que há uma associação entre a frequência principal do sinal e a taxa pulsátil regular (WATKINS, 1968). A despeito da variabilidade alta nos padrões de modulação de amplitude dos pulsos nos cantos de algumas espécies, eles foram classificados como tal de acordo com a definição de pulso acima. Além disso, o padrão de modulação de amplitude em *Adenomera* é sempre incompleto, i.e. a modulação entre pulsos < 100%. As terminologias acústicas seguiram essencialmente as propostas por Cocroft e Ryan (1995), e Gerhardt e Huber (2002). Vide Tabela 1 para as variáveis acústicas consideradas e suas respectivas definições. Para as três espécies (*A. cotuba*, *A. martinezi* e *A. saci*) que apresentam a frequência dominante absoluta (FD) coincidente com o 1° e 2° harmônicos (H1 e H2, respectivamente), ou dentro de um mesmo sinal acústico ou entre sinais acústicos de um dado indivíduo, convencionou-se a média a partir do harmônico que representou a moda (em negrito) para o parâmetro FD dentre os indivíduos analisados (N): *A. cotuba* (FD = H1, N = 4; FD = H1 e H2; N = 4; **FD = H2; N = 5**); *A. martinezi* (**FD = H1, N = 10**; FD = H1 e H2; N = 3; FD = H2; N = 2); *A. saci* (FD = H1, N = 7; FD = H1 e H2; N = 2; **FD = H2; N = 11**). O mesmo foi convencionado a outros parâmetros espectrais que pudessem ser automaticamente

analisados em diferentes harmônicos pelo programa em função da coincidência com o ponto mais energético do sinal (modulação linear de frequência, largura de banda da frequência, frequência dominante do ataque, frequência dominante da queda), de modo que ele foi quantificado para o harmônico que contivesse a frequência dominante absoluta ou para o harmônico que representasse a moda.

Os dados acústicos para todas as espécies foram analisados ou reanalisados essencialmente sob as mesmas configurações e programa pelo autor. Outros dados (tamanho corporal e habitat de vocalização; Tabela 2) foram por vezes obtidos de outros estudos ou de partes da tese da Dra. Carla S. Cassini (CASSINI, 2015). As vocalizações foram analisadas em uma versão atualizada do programa Soundruler (GRIDI-PAPP, 2007) com interface no MATLAB 6.5.2 (MATLAB, 2004), de modo que fosse possível desenvolver programação de caracteres acústicos adicionais à versão disponível gratuitamente na internet (http://soundruler.sourceforge.net/main/) para as análises, e para o desenvolvimento de procedimentos de automatização analítica através do reconhecimento e delineamento de características dos sinais acústicos sob análise (Figuras 2 e 3). As quantificações automatizadas no Soundruler podem ser acompanhadas através de objetos gráficos: uma linha azul delineando o envelope temporal do sinal acústico na janela do oscilograma (Figuras 2 e 3); outra linha azul mapeando as variações na frequência dominante ou outras frequências, pré-estabelecida nas configurações e delimitada por linhas verdes (contínuas e hachuradas como limites mínimo e máximo, respectivamente) na janela do espectrograma (Figuras 2 e 3); pontos azuis ao longo das modulações de amplitude do sinal acústico, i.e. pulsos, na janela do espectrograma, representando os picos de amplitude de cada um dos pulsos (Figura 3). Para as quantificações, o programa se utiliza de nove pontos de referência da amplitude do sinal: 1° ponto (0% de amplitude); 2° ponto (10% iniciais de amplitude); 3° ponto (50% iniciais de amplitude); 4° ponto (90% iniciais de amplitude); 5° ponto (pico de amplitude = 100% amplitude); 6° ponto (90% finais de amplitude); 7° ponto (50% finais de amplitude); 8° ponto (10% finais de amplitude); 9° ponto (0% de amplitude). Para uma visualização mais detalhada dos pontos de referência, é possível detectá-los na janela de zoom do oscilograma. As configurações de análise foram particulares para espécies, populações ou mesmo indivíduos, dependendo do nível de variabilidade das modulações na amplitude da frequência. Mesmo assim, foi feito um esforço para ajustar às configurações de análise para uma dada espécie, de modo que elas pudessem ser empregadas na maior parte das gravações analisadas dessa espécie. Com a exceção de cantos com duração muito curta, as análises foram feitas com FFT

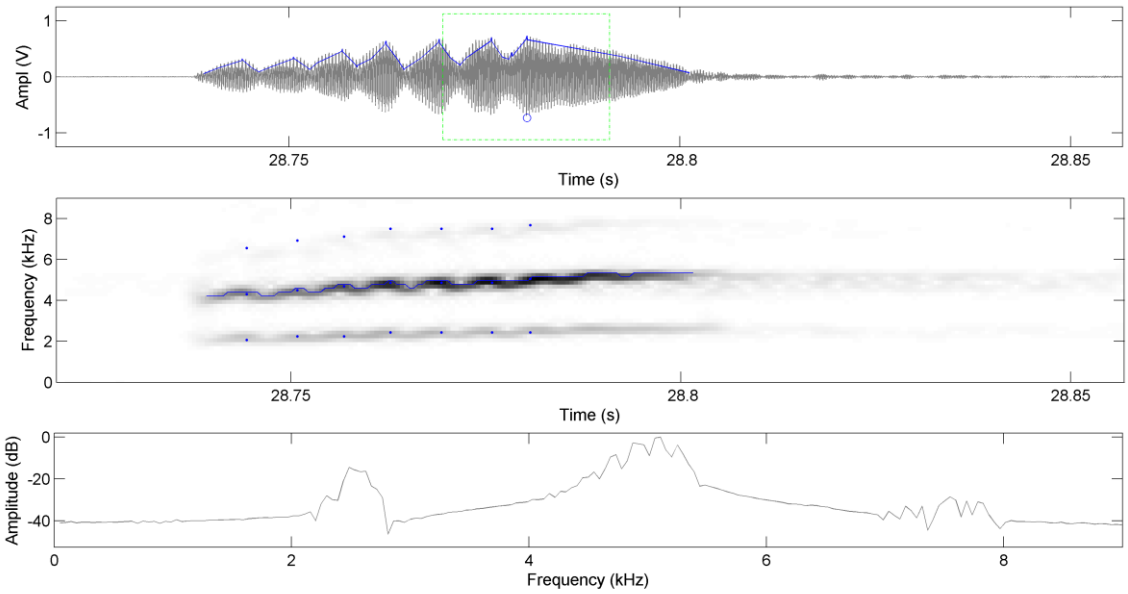
de 1024 e 90% de sobreposição de janela. Nos casos de sinal acústico com duração muito curta (p. ex., *Adenomera* sp. J), as configurações foram FFT de 1024 e 99% de sobreposição de janela.

Figura 2 – Reconhecimento e quantificação automizadas das características do canto. De cima para baixo: oscilograma, espectrograma e espectro de amplitude de um sinal não pulsado de uma espécie de *Adenomera* (*A. ajurauna*) no Soundruler. O delineamento do envelope do canto e da estrutura espectral é feito pelos contornos azuis. No oscilograma: o pico de amplitude do sinal é assinalado com um círculo vazio; no espectrograma: o rastreamento das frequências é feito por harmônicos (as duas barras verdes estão delimitando o harmônico que servirá de base para a frequência fundamental e/ou dominante).



Fonte: elaborada pelo autor

Figura 3 – Reconhecimento e quantificação automizadas das características do canto. De cima para baixo: oscilograma, espectrograma e espectro de amplitude de um sinal pulsado (sete pulsos) de uma espécie de *Adenomera* (*A. andreae*) no Soundruler. O delineamento do envelope do canto e pulso e da estrutura espectral é feito pelos contornos azuis. No oscilograma: o pico de amplitude do sinal é assinalado com um círculo vazio; no espectrograma: os picos de amplitude de cada pulso são assinalados com pontos azuis menores.



Fonte: elaborada pelo autor

Quando necessário, as gravações foram filtradas acima e/ou abaixo da frequência do sinal acústico de interesse. O critério de segurança das frequências de corte, para não se perder informações com a atenuação da amplitude nas faixas mínimas e máxima de frequência, foi sempre aplicar filtros pelo menos a bandas com corte na metade da frequência mínima do sinal (filtro passa-acima) ou bandas com corte no dobro da frequência máxima do sinal (filtro passa-abaixo). Vale ressaltar que filtros foram mais comumente aplicados a frequências muito baixas (filtro passa-acima com frequência de corte entre 80-100 Hz) apenas para a atenuação de ruído de fundo. Valores de média, desvio padrão e coeficiente de variação para caracteres quantificados para pulsos foram implementados no Soundruler e esses valores foram obtidos automaticamente para cada indivíduo analisado. A duração dos cantos foi estipulada entre o intervalo entre os pontos de 10% iniciais e finais ao invés da duração total

(zero a zero), pois as porções de baixa amplitude são as mais afetadas por ruído de fundo e podem ser mal delimitadas no oscilograma. Os resultados da análise foram exportados em planilhas para cantos e pulsos, nas quais é possível acessar uma síntese das variáveis de interesse e uma série de outras quantificações não empregadas nesse estudo: posições absolutas para cada seleção e medida realizada nas gravações (em amostras), valores brutos de amplitude e frequência para cantos e pulsos, e configurações de análise. As figuras sonoras foram geradas no R, através do pacote seewave, versão 1.7.3 (SUEUR et al., 2008) com as configurações de 256 amostras (FFT), 85% de sobreposição (ovelap) e janela do tipo Hann.

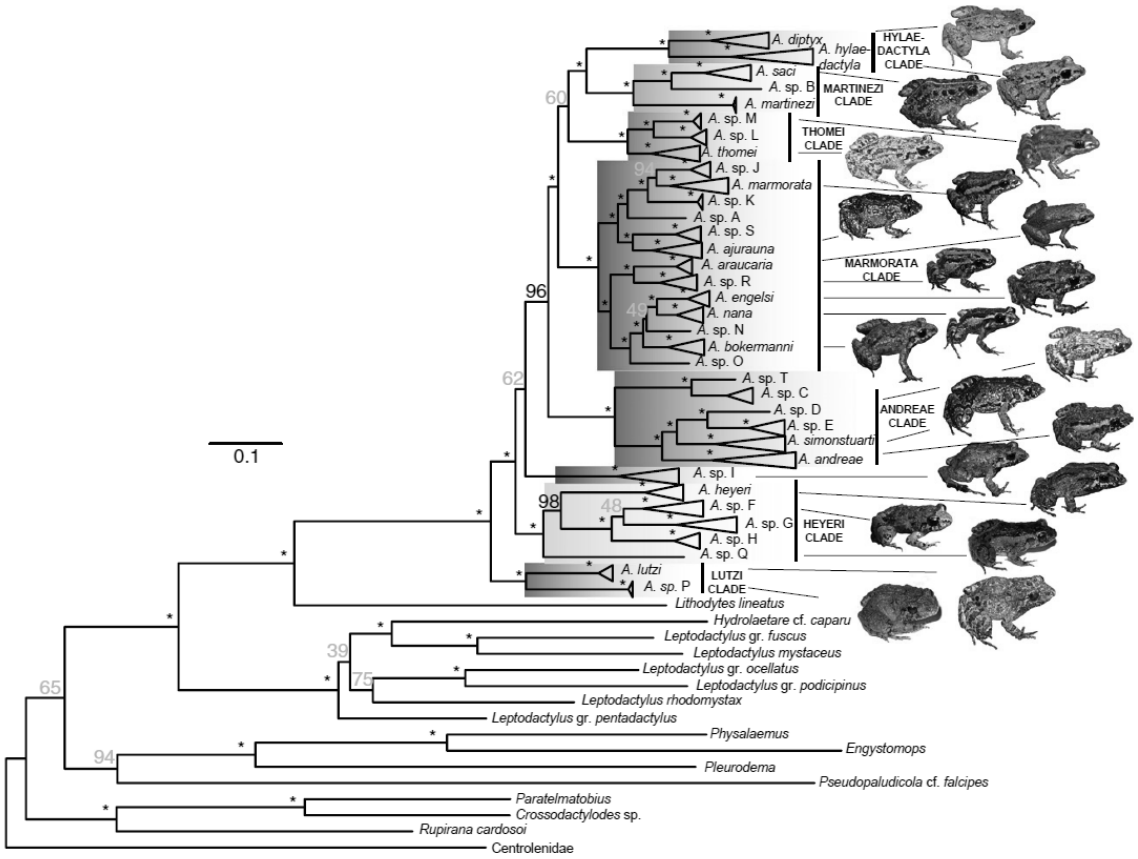
Sinais acústicos (= canto) das dezoito espécies descritas de *Adenomera* e algumas das espécies candidatas de Fouquet et al. (2014) foram analisados com base em gravações feitas em campo (acervo de gravações do Laboratório de Taxonomia, Sistemática e Evolução de Anuros Neotropicais, sob responsabilidade do Dr. Ariovaldo A. Giaretta), gravações cedidas por colaboradores e outros pesquisadores, além de acervo de gravações: uma gravação de *A. heyeri* foi obtida do CD do guia sonoro de anfíbios da Guiana Francesa (MARTY; GAUCHER, 1999); gravação atribuída a *Adenomera* sp. N foi acessada no acervo sonoro da Fonoteca Neotropical Jacques Vielliard (FNJV), UNICAMP, Campinas. Gravações oriundas da localidade tipo ou provenientes de regiões próximas foram obtidas para as espécies, ressalvadas *A. bokermanni* e *A. thomei* (vide Tabela 2 para os tamanhos amostrais e outras informações sobre as análises acústicas para as espécies de *Adenomera*). Para *A. bokermanni*, a análise foi feita a partir de gravações do estado de Santa Catarina, enquanto a localidade tipo dessa espécie se situa no município de Paranaguá (PR). Há um estudo (em fase de submissão) desenvolvido por colaboradores (CASSINI; TAUCCE, informação pessoal), no qual a espécie é redescrita, incluindo o seu canto de anúncio. Com base em informações de topótipos compartilhadas por eles, é possível afirmar que o padrão acústico da população analisada aqui parece não diferir substancialmente em nada do padrão acústico da população topotípica. Em relação a *A. thomei*, não foi possível obter gravações na sua localidade tipo (Linhares, ES). Mesmo assim, as populações com gravações disponíveis (MG e SP) têm vocalizações similares às da descrição original da espécie no que concerne o envelope temporal e estrutura espectral (ALMEIDA; ANGULO, 2006) a despeito de alguma variação intraespecífica em algumas variáveis do canto. Além disso, as populações de *A. thomei* gravadas estão dentro da distribuição reconhecida para a espécie no estudo filogenético do gênero (FOUQUET et al., 2014).

A única gravação obtida de Morretes (PR) foi atribuída *Adenomera* sp. N (gravação da FNJV), a espécie candidata com ocorrência restrita a esse município do sul do Brasil. Pela proximidade geográfica e padrão acústico muito similar, há a possibilidade de que essa gravação pertença às outras duas espécies da região e com esse padrão acústico: *A. bokermanni* ou *Adenomera* sp. O. A atribuição da gravação à "sp. N" foi mantida, pois ela apresentou diferenças quantitativas que não podiam ser desconsideradas em relação às gravações analisadas para *A. bokermanni* e "sp. O" (cedidas pelo MsC. Pedro Taucce e Dra. Carla Cassini). De qualquer forma, as análises acústicas para essas espécies são exploratórias até que mais gravações e espécimes sejam acessados.

Além disso, gravações feitas pelo Dr. Axel Kwet na localidade tipo de *A. araucaria* e gravações de *A. diptyx* do Paraguai (gravação do Dr. Victor Zaracho) foram solicitadas para fins de reconhecimento de padrões acústicos. Nesses dois casos, as gravações não foram incluídas nas análises, porque não foi possível realizar muitas quantificações ou correspondiam a gravações inéditas e sob análise pelo pesquisador, mas ambas serviram como base comparativa dos padrões acústicos para essas espécies, que foram reconhecidos em gravações de outras populações incluídas nas análises desse estudo.

Análises da variabilidade acústica em nível individual e populacional foram conduzidas para as espécies com maiores tamanhos amostrais (Tabela 2) das regiões com maior esforço amostral e associação entre morfótipo e padrão acústico, sendo o foco principal nesse estudo: espécies dos clados *A. andreae*, *A. hylaeactyla* e *A. heyeri* (sensu FOUQUET et al., 2014) com ocorrência nos domínios do Cerrado e Amazônia. Variação acústica populacional do clado *A. martinezi*, particularmente *A. saci*, já foi apresentada em Carvalho e Giaretta (2013a). A variação acústica em outros clados foi explorada quando possível. As caracterizações e comparações acústicas foram feitas considerando as inter-relações e agrupamentos das linhagens de *Adenomera* em Fouquet et al. (2014). A primeira reconstrução filogenética provida pelos autores (FOUQUET et al., 2014, p. 6) serviu como base para as comparações interespecíficas (Figura 4). A espécie *Adenomera coca* foi incluída nas análises acústicas dos morfótipos associados a *A. hylaedactyla*, uma vez que foi recuperada dentro de um dos clados internos de *A. hylaedactyla* em Fouquet et al. (2014). Gravação de um indivíduo dessa espécie foi incluída nas análises acústicas.

Figura 4 – Reconstrução filogenética do gênero *Adenomera* com base em análise Bayesiana usando dois fragmentos de genes mitocondriais e dois de genes nucleares (FOUQUET et al., 2014). As probabilidades posteriores (%) estão próximas aos nós, os asteriscos representam probabilidade > 95%. A escala dos ramos está em número de substituições.



Fonte: extraída de Fouquet et al. (2014), p. 6.

Tabela 1 (continua) – Lista de caracteres acústicos analisados para espécies de Leptodactylinae através da análise automatizada implementada no Soundruler com interface em MATLAB. Caracteres ligados à amplitude foram obtidos nos oscilogramas; caracteres ligados à frequência foram obtidos nos espectrogramas e espectro de amplitude. As unidades abaixo são as unidades padrão do programa para esses parâmetros acústicos.

CARACTERES ACÚSTICOS	DESCRIÇÃO BREVE
Caracteres temporais (amplitude)	
Caracteres do canto	
Duração do canto (s)	Duração entre os 10% iniciais e 10% finais da amplitude do sinal
Pico de amplitude (%)	Ponto relativo de amplitude máxima do sinal
Duração do ataque (s)	Duração entre os 10% e 90% inicias da amplitude do sinal
Duração do platô (s)	Duração entre os 90% iniciais e 90% finais da amplitude do sinal
Duração da queda (s)	Duração entre os 90% e 10% finais da amplitude do sinal
Taxa de repetição de cantos (cantos/min.)	
Caracteres do canto e do pulso	
Formato do ataque (sem unidade)	Coeficiente de amplitude entre os intervalos iniciais 10-50% 10-90%
Formato da queda (sem unidade)	Coeficiente de amplitude entre os intervalos finais 90-50% 90-10%
Fator de crista (sem unidade)	Coeficiente entre o pico de amplitude e RMS
Caracteres do pulso	Número de cantos - 1 / duração inicial do 1º ao último canto da amostra
Duração do pulso (ms)	Duração entre os 10% iniciais e 10% finais da amplitude
Taxa de repetição de pulsos (pulsos/s)	Número de pulsos - 1 / duração pico-a-pico do 1º ao último pulso

Tabela 1 (conclusão) – Lista de caracteres acústicos analisados para espécies de Leptodactylinae através da análise automatizada implementada no Soundruler com interface em MATLAB. Caracteres ligados à amplitude foram obtidos nos oscilogramas; caracteres ligados à frequência foram obtidos nos espectrogramas e espectro de amplitude. As unidades abaixo são as unidades padrão do programa para esses parâmetros acústicos.

Caracteres espectrais (frequência)	
Caracteres do canto	
Frequência dominante absoluta (Hz)	Frequência contendo a maior energia do sinal
Frequência fundamental (Hz)	Pico de frequência (= pico de amplitude) no 1° harmônico
Modulação linear da frequência (Hz)	Diferença entre os 10% finais e iniciais do sinal (harmônico dominante)
Largura de banda 10% (Hz)	Largura de banda até 10% do pico de amplitude (-20 dB_{SPL})
Energia relativa dos harmônicos (sem unidade)	Razão entre o 1° e 2° harmônicos no pico de frequência
Frequência dominante dos quartis (Q1 a Q4; Hz)	Pico de frequência nos intervalos temporais: 0-25%, 25-50%, 50-75%, 75-100%
Caracteres do pulso	
Frequência fundamental (Hz)	Média dos picos de frequência dos pulsos no 1° harmônico

Fonte: elaborada pelo autor

Tabela 2 – Tamanhos amostrais para vocalizações de anúncio (Cantos), populações (Pop) e indivíduos (Ind) analisados; comprimento rostro-cloacal médio (machos adultos; CRC); e habitats de vocalização (F: florestal; A: área aberta) para as espécies de *Adenomera*. Espécies candidatas (nomeadas com letras) de acordo com Fouquet et al. (2014). Para as espécies com o anúncio formado por séries de cantos, o tamanho amostral se refere aos cantos e não às séries. * Informações detalhadas sobre gravações e localidades tipo (L.T.) na seção de metodologia.

Espécie	Pop	Ind	Cantos	L.T.	CRC	Habitat
A. ajurauna	2	6	121	SIM	19,0	F
A. andreae	3	18	773	SIM	21,2	F
A. araucaria*	2	10	229	SIM	18,4	F
A. bokermanni*	2	8	288	NÃO	22,2	F
A. coca	1	1	6	SIM	23,9	A
A. cotuba	5	13	732	SIM	20,3	F
A. diptyx*	5	15	1539	SIM	20,9	A
A. engelsi	6	7	49	SIM	21,8	F
A. heyeri	1	1	20	SIM	24,0	F
A. hylaedactyla*	4	18	1048	SIM	24,2	A
A. juikitam	6	11	389	SIM	20,4	F
A. lutzi	1	2	89	SIM	30,2	F
A. marmorata	2	6	215	SIM	20,8	F
A. martinezi	1	15	1241	SIM	23,3	A
A. nana	6	13	252	SIM	18,3	F
A. saci	4	20	1583	SIM	21,8	A
A. simonstuarti	1	1	18	SIM	26,0	F
A. thomei	3	7	195	NÃO	22,5	A
***Adenomera* sp. A**	1	2	78	-	20,6	F
***Adenomera* sp. J**	4	13	739	-	19,3	F
***Adenomera* sp. K**	2	6	223	-	20,9	F
***Adenomera* sp. N**	1	1	23	-	16,2	F
***Adenomera* sp. O**	1	2	95	-	21,4	A
***Adenomera* sp. R**	1	1	9	-	18,8	F
***Adenomera* sp. S**	5	14	616	-	19,4	A

Fonte: elaborada pelo autor

3.4 Análises estatísticas

Descritores estatísticos utilizados foram: média, desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV, i.e., DP / média). Valores de CV alto (> 12%) e baixo (≤ 5%) foram usados como critério para a classificação dos caracteres dos cantos como propriedades acústicas estáticas e dinâmicas, respectivamente (sensu GERHARDT, 1991). Com base nessa classificação, graus de variabilidade de caracteres acústicos foram estimados em três níveis: individual, populacional, entre populações de uma dada espécie (= variabilidade da espécie), e entre diferentes espécies.

As análises estatísticas foram implementados no programa R (R CORE TEAM, 2015) usando os seguintes pacotes: adegenet, versão 2.0.0 (JOMBART, 2008); MASS, versão 7.3.44 (VENABLES; RIPLEY, 2002); vegan, versão 2.3.1 (OKSANEN et al., 2013). Análises multivariadas incluíram Análises de Componentes Principais (ACPs), Análises de Variância (ANOVA), Análises Multivariadas de Covariância (MANCOVA), e Análises de Função Discriminante (AFDs), seguindo os seus respectivos pressupostos matemáticos (ZAR, 1999). As ACPs foram utilizadas como teste exploratório para estudar as correlações de um grande número de variáveis, sendo que os escores desses fatores pudessem ser utilizados em outras análises *a posteriori*, tais como regressões, análise discriminante (ADF), ANOVA, entre outras. A análise discriminante foi utilizada para: i) testar o melhor grupo de variáveis que define/discrimina as espécies e população estudadas (pode ser aplicada *a posteriori* a partir de grupo pré-definidos na ACP); ii) testar se diferentes subconjuntos de variáveis funcionam igualmente bem; e iii) examinar os grupos mais e menos similares a partir de dados acústicos e morfométricos. Uma análise de classificação de grupos através de um algoritmo de agregação de Bootstrap (*bagging*) foi conduzida paralelamente à tabela de classificação das AFDs para explorar a congruência dos resultados a partir de métodos com pressupostos distintos (LIAW; WIENER, 2002). A estimativa de erro nas classificações foi avaliada pelo estimador *out-of-bag* de erro (OOB).

As ACPs foram feitas sobre matrizes de correlação foram aplicadas aos dados acústicos normalizados (média = 0; variância = 1) e dados morfométricos logaritmizados ($\log_{10}$). Os três primeiros eixos da ACP foram usados como variáveis dependentes em uma MANCOVA para testar se os grupos analisados diferiam significativamente ($\alpha \leq 0{,}05$) entre si acusticamente levando em conta a variação da temperatura. A temperatura do ar no momento das gravações foi incluída como covariável quando esse dado estava disponível,

uma vez que é esperado que variação em temperatura tenha influência sobre parâmetros dos cantos (RYAN, 1988; GERHARDT; HUBER, 2002). O mesmo procedimento estatístico não foi aplicado à relação entre tamanho e variáveis espectrais do canto devido ao baixo tamanho amostral de gravações associadas a um espécime testemunho. A análise discriminante dos componentes principais (DAPC; JOMBART, 2008) foi utilizada na discriminação dos grupos com os mesmos objetivos de uma DFA convencional, mas sem as restrições causadas pelos pressupostos de correlação entre variáveis e número de variáveis ser maior que de observações (indivíduos) (JOMBART et al., 2010). Escores, autovalores e contribuição por eixo estão nos Apêndice C e E; carregamentos das variáveis (*loadings*) no Apêndice D e F.

3.5 Métodos Comparativos Filogenéticos (MCFs)

Os métodos comparativos filogenéticos (MCFs) para *Adenomera* foram aplicados a uma topologia cedida pelo primeiro autor do estudo filogenético para esse grupo taxonômico (FOUQUET et al., 2014). A topologia tem a informação de comprimentos de ramo em escala de tempo (i.e. árvore ultramétrica). A topologia disponibilizada está de acordo com a reconstrução filogenética por inferência Bayesiana com base em análises multilocus da Figura 4a do estudo filogenético citado acima (FOUQUET et al., 2014, p. 9). A topologia com os seus respectivos comprimentos de ramo pode ser visualizada na Figura 5. A espécie *A. coca* foi recuperada embebida dentro de outra espécie, *A. hylaedactyla* (sensu FOUQUET et al., 2014). Por esse motivo, essa espécie foi excluída dos MCFs.

Todos os MCFs foram implementados no programa R (64 bits), versão 3.2.2 (R CORE TEAM, 2015). Sete variáveis acústicas foram selecionadas a partir dos resultados das análises acústicas de todas as espécies da topologia para a aplicação de métodos comparativos: duração do canto, taxa de repetição dos cantos, pico relativo de amplitude, razão energética entre os primeiros dois harmônicos, frequência fundamental, frequência dominante e modulação linear de frequência. Primeiramente, o sinal filogenético de dados contínuos foi avaliado através de uma abordagem multivariada através do parâmetro multivariado K_{mult} sob o modelo evolutivo Browniano, como implementado por Adams (2014). O sinal filogenético de dados contínuos (dados acústicos e CRC) também foi estimado para variáveis através do parâmetro estatístico K (BLOMBERG et al., 2003) e lambda (PAGEL, 1999) no pacote phytools, versão 0.5-64 (REVELL, 2012), em interface com os pacotes ape, versão 4.0 (PARADIS et al., 2004); geiger, versão 2.0.6 (HARMON et al., 2008). Foram geradas mil

simulações para os testes de randomização (BLOMBERG et al., 2003). O sinal filogenético de dados discretos foi avaliado pelo método de aleatorização de topologias, implementado por Maddison e Slatkin (1991), otimizado no R em interface com os pacotes ape, geiger, phangorn, versão 2.1.1 (SCHLIEP, 2011), e phylobase, versão 0.8.2 (HACKATHON et al., 2016).

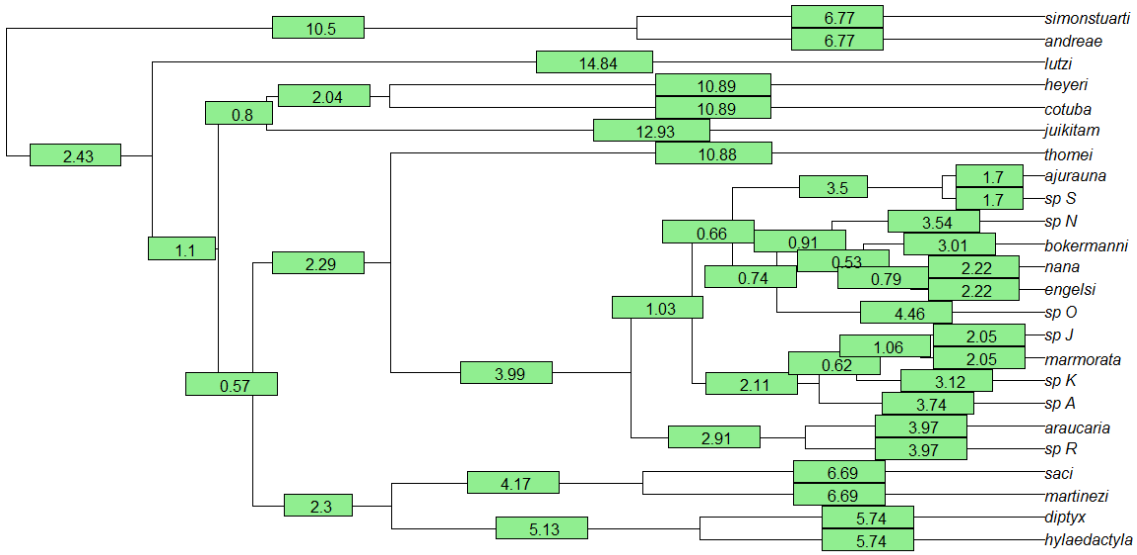
Regressões filogenéticas entre caracteres acústicos contínuos e entre esses e tamanho (CRC) foram conduzidas com os dados logaritmizados através de modelos lineares generalizados levando em conta a não-independência entre os terminais: função ‘pgls’ do pacote caper, versão 0.5.2 (ORME et al., 2013), com transformação dos comprimentos de ramo otimizados por máxima verossimilhança. O método implementado foi descrito por Freckleton et al. (2002). Análises de variância multivariada filogenética, como descritas por Garland et al. (1993), foram implementadas (N = 1000 simulações) através da função ‘phylANOVA’ do pacote phytools com correção a posteriori de acordo com a descrita por Holm (1979).

Dois modelos evolutivos foram testados para explorar processos evolutivos dos caracteres contínuos na topologia levando em conta a classificação de habitat de vocalização (florestal vs. área aberta): modelo browniano (BM) e modelo de Ornstein-Uhlenbeck (O-U). Esse último com dois regimes: um (O-U1) ou dois picos (O-U2) de ótimo para a associação entre o caráter acústico e o habitat de vocalização. O modelo BM sob o pressuposto de mudanças aleatórias (evolução neutra), enquanto o O-U sob uma seleção estabilizadora (pressões seletivas e *constraints* biológicos). Os habitats de vocalização foram classificados em dois grupos: florestal, para espécies estritamente florestais e para aquelas que têm habitat de vocalização associado a ambientes sombreados pelo menos; área aberta, para as espécies que vocalizam em ambientes abertos, mesmo que possam ocupar outros tipos de ambientes (assumindo que o contrário não ocorre com as espécies do grupo “florestal”, estando restritas a ambientes sombreados). Os modelos evolutivos foram implementados no pacote ouch, versão 2.9-2 (KING; BUTLER, 2009).

Para dados discretos (pulsos: presente vs. ausente; habitat de vocalização: florestal vs. área aberta; modulação de frequência: ausente vs. presente), dois modelos evolutivos foram utilizados: ER (*equal-rates model*) e ARD (*all-rates-differerent model*), ambos com taxas constantes de evolução em cada ramo da topologia, mas com taxas evolutivas iguais (ER) ou diferentes (ARD) entre os ramos da topologia. Esses modelos foram implementados no pacote geiger. O melhor modelo evolutivo, tanto para dados discretos (modelos ER e ARD) quanto

para dados contínuos (modelos BM e O-U), foi avaliado através de um teste qui-quadrado dos estimadores de máxima verossimilhança dos modelos (lnL; I.C. = 95%). Os dados contínuos foram logaritmizados para as análises de regressões e ANOVA filogenéticas, assim como para os testes de modelos evolutivos. Os estimadores de máxima verossimilhança (lnL), critérios de informação Akaike (ACC) e corrigido (AICc) foram utilizados como parâmetros comparativos dos modelos evolutivos testados para a associação entre caracteres acústicos contínuos e habitat de vocalização.

Figura 5 – Topologia com as espécies de *Adenomera* consideradas nesse estudo, para as quais há vocalizações disponíveis. Os valores dos ramos correspondem aos comprimentos de ramos associados a uma escala de tempo relativa (milhões de anos).



Fonte: topologia disponibilizada pelo Dr. Antoine Fouquet.

4 RESULTADOS

4.1 Morfologia externa e padrões de coloração

Algumas características de coloração e morfologia externa se mostraram variáveis dentro de cada espécie a ponto de serem ineficazes na separação de algumas espécies de *Adenomera* analisadas nesse estudo: glândula pós-comissural, quantidade de tubérculos (na superfície superior da canela, posterior do tarso e sola do pé); presença de tubérculos paracloacais e de glândulas/manchas ocelares na cintura pélvica; tais caracteres previamente reportados por Heyer (1977). Em contraste, algumas características se mostraram conservadas em cada espécie e possivelmente representam características robustas para a discriminação entre elas: padrões de coloração dorsal, tamanho e compleição corpórea, formato da cabeça e focinho, presença/ausência e distribuição de glândulas no dorso. Segue nos próximos parágrafos uma síntese da variação morfológica, morfométrica e cromática para as espécies agrupadas nos clados propostos em Fouquet et al. (2014).

O clado *A. hylaedactyla* é formado por duas espécies: a espécie que dá nome ao clado e *A. diptyx*. Essas espécies podem ser diferenciadas entre si pela combinação de duas características morfológicas: compleição corporal e formato da cabeça em vista dorsal: em *A. hylaedactyla*, corpo relativamente robusto e cabeça com formato sub-elíptico (que pode tender ao sub-ovóide); enquanto o corpo é mais esguio e a cabeça com formato entre sub-elíptico e pontiagudo em *A. diptyx*. A linha vertebral esteve presente em todos os indivíduos analisados de *A. diptyx*, enquanto variou muito em *A. hylaedactyla*, desde a completa ausência até a presença de uma linha completa. Portanto, essa e outras características de coloração dorsal são variáveis a ponto de serem pouco confiáveis na diferenciação dessas espécies.

O clado *A. martinezi* é composto por três espécies: a espécie que dá nome ao clado, *A. saci* e a espécie candidata *Adenomera* sp. B, amostrada de uma única localidade (Carolina, MA). Os resultados das duas primeiras espécies em Carvalho e Giaretta (2013a) concluíram que elas representavam um par de espécies morfologicamente crípticas. Elas, contudo, têm um conjunto de características morfológicas e cromáticas que as diferencia de todos os seus congêneres: machos com compleição corpórea esguia e focinho pontiagudo em vista dorsal; linha vertebral completa; quatro a seis fileiras longitudinais de manchas escuras e arredondadas, que são comumente coincidentes com fileiras glandulares. Com base nas

fotografias cedidas pelo Dr. Antoine Fouquet de um espécime preservado do MZUSP, o qual é atribuído a *Adenomera* sp. B, não é possível reconhecer as características peculiares de *A. martinezi* e *A. saci*, mas sim características que o aproximam do clado *A. hylaedactyla*.

O clado *A. thomei* contém três espécies: a espécie que dá nome ao clado, cuja distribuição está associada ao sudeste do país, enquanto as duas espécies candidatas (*Adenomera* sp. L e *Adenomera* sp. M) ocorrem no litoral sul do estado da Bahia. Os dados aqui só se referem a *A thomei*. Os espécimes coletados em campo e examinados em coleções apresentam essencialmente as características de coloração e morfologia apresentadas na descrição original da espécie (ALMEIDA; ANGULO, 2006). Vale a ressalva que a característica "mancha interorbital", uma das características listadas como diagnósticas da espécie, é mais variável do que originalmente apresentada (vide Apêndice A para as localidades e espécimes examinados).

O clado *A. marmorata* contém o maior número de espécies descritas e espécies candidatas, cuja distribuição está associada ao sudeste e sul do país. Um dos subclados parece ter distribuição restrita ao sudeste e é formado por dois subgrupos: um deles contém a espécie que dá nome ao clado e três espécies candidatas: *Adenomera* sp. J, *Adenomera* sp. K e *Adenomera* sp. A. Foram analisados espécimes de *A. marmorata* e *Adenomera* sp. A do estado do Rio de Janeiro, e de *Adenomera* sp. J e *Adenomera* sp. K do estado de São Paulo (vide Apêndice A). Nenhuma característica morfológica, tamanho ou coloração foram divergentes entre as quatro linhagens. Os machos adultos apresentaram tamanho geralmente pequeno (CRC < 20 mm); a porção distal dos artelhos é expandida em discos; e os padrões de coloração dorsal (manchas na região interorbital e escapular; faixas dorsolaterais) foram variáveis. O outro subgrupo contém duas espécies: *A. ajurauna* e a espécie candidata *Adenomera* sp. S. Essas espécies têm padrões de coloração dorsal e lateral distintos, que parecem ser consistentes para a diferenciação interespecífica.

O outro subclado tem distribuição associada ao sul do Brasil e é formado por dois subgrupos principais: um deles contém *A. araucaria* e *Adenomera* sp. R., o outro pelo restante das espécies descritas dessa região (*A. bokermanni*, *A. nana* e *A. engelsi*), além de espécies candidatas (*Adenomera* sp. N, *Adenomera* sp. O e *Adenomera* sp. R). Os dados morfológicos e de coloração obtidos para o subclado do sul do país estão limitados a *A. bokermanni* (Paranaguá) e *Adenomera* sp. O (Morretes) no estado do Paraná. Mesmo assim, são populações próximas geograficamente e indistinguíveis em morfologia, tamanho e coloração. As características de ambas as populações estão de acordo com as propostas na

diagnose original da espécie (HEYER, 1973). Alguns espécimes de *A. engelsi* provenientes do estado de Santa Catarina também foram analisados e têm características gerais como apresentadas na descrição original da espécie (KWET et al., 2009).

O clado *A. andreae* é formado por essa espécie, *A. simonstuarti* (Peru) e quatro espécies candidatas (*Adenomera* sp. C, *Adenomera* sp. D, *Adenomera* sp. E e *Adenomera* sp. T), para as quais nenhuma informação foi obtida. A despeito da variação em padrões de coloração (manchas e faixas dorsais), o conjunto de características morfológicas a seguir foi útil na diferenciação de *A. andreae* no gênero: tamanho relativamente pequeno (CRC máximo de machos adultos: aproximadamente 22 mm), cabeça larga (sub-ovóide tendendo a um contorno arredondado) e focinho arredondado (proeminente e pontiagudo em algumas outras espécies), porção distal dos artelhos expandidos em discos. Nenhum espécime de *A. simonstuarti* foi examinado.

O clado *A. heyeri* é formado por essa espécie e cinco espécies candidatas (*Adenomera* sp. F, *Adenomera* sp. G, *Adenomera* sp. H, *Adenomera* sp. I e *Adenomera* sp. Q), para duas delas ("sp. H" e "sp. I"), há evidências morfológicas (fotografias de espécimes preservados) e distribucionais (FOUQUET et al., 2014) que apontam para o fato de que já tenham sido descritas: *A. cotuba* e *A. juikitam* (CARVALHO; GIARETTA, 2013b). É certo que com base na distribuição de ambas as espécies descritas, *Adenomera* sp. H seja coespecífica a *A. cotuba*, enquanto *Adenomera* sp. I seja coespecífica a *A. juikitam* (Apêndice A). Nas próximas seções, novos registros para a distribuição e novos dados acústicos para ambas as espécies são mais bem explorados. Por outro lado, espécimes de *A. heyeri* e das outras espécies candidatas não foram examinados.

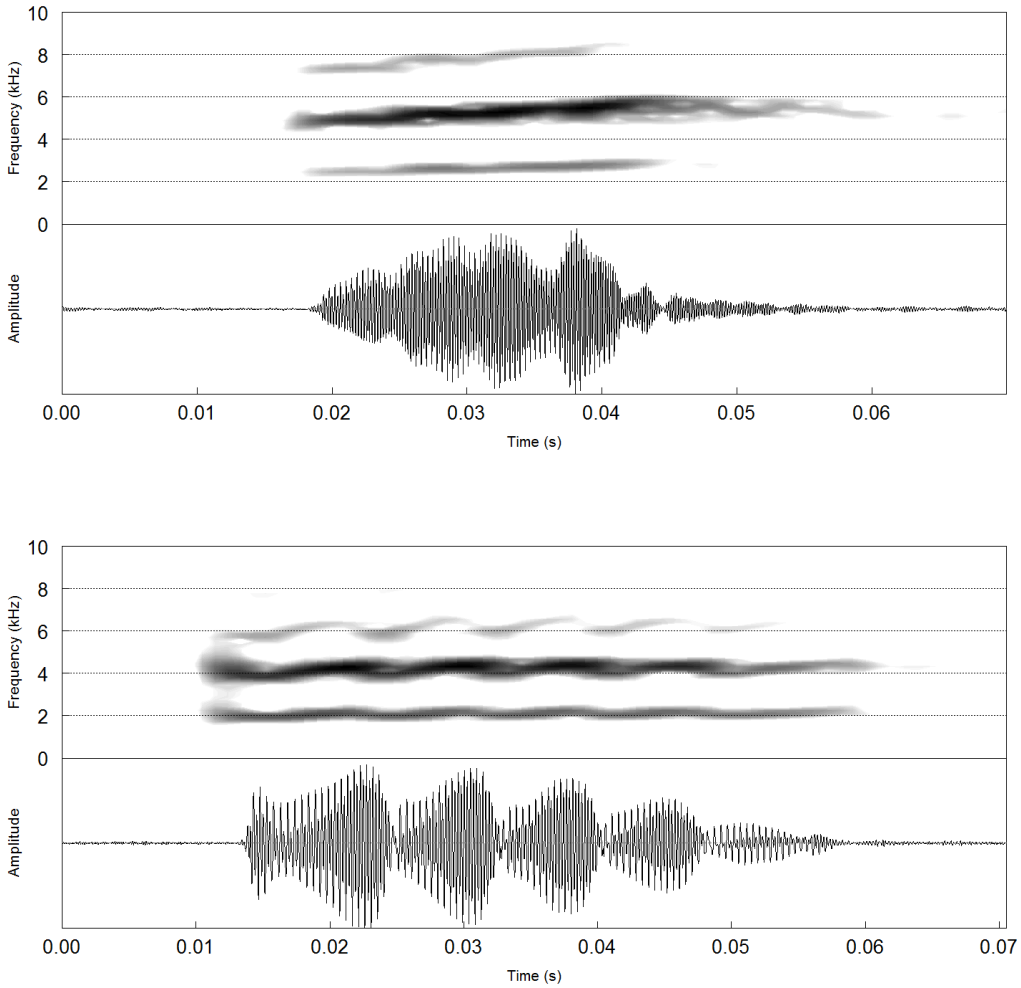
O clado *A. lutzi* é formado por essa espécie e uma espécie candidata (*Adenomera* sp. P), para a qual não há dados disponíveis. Espécimes examinados de *A. lutzi* apresentam duas características muito úteis na diferenciação em relação aos seus congêneres: tamanho, sendo a maior espécie do gênero, com CRC médio dos machos em torno de 30 mm (nem as fêmeas das demais espécies, que tendem a ser maiores que os machos, alcançam esse tamanho); e a presença de tubérculo na face inferior do antebraço (tubérculos antebraquiais somente foram citados para *A. cotuba*, uma espécie de pequeno porte; vide Tabela 2).

4.2 Caracterização acústica das espécies

A diversidade acústica das vocalizações de anúncio (Tabelas 3-6) foi classificada em algumas categorias para facilitar o reconhecimento de padrões e comparações interespecíficas das características qualitativas das vocalizações: i) padrões de modulação de amplitude (pulsado vs. não pulsado); ii) modulação linear de frequência (ascendente: > 150 Hz de modulação positiva; descendente: > 150 Hz de modulação negativa; sem modulação ou irrisória: até 150 Hz de modulação); iii) taxa de repetição de cantos (alta: > 100 cantos/min.; baixa: < 100 cantos/min.); iv) duração do canto (longo: > 100 ms; curto: < 100); frequência dominante (alta: > 4 kHz; baixa < 4 kHz); v) harmônico dominante: ponto de maior energia do sinal coincidente com o 1° harmônico (frequência fundamental), 2° harmônico ou ambos. Segue nos próximos parágrafos uma síntese da diversidade acústica para as espécies agrupadas basicamente nos clados propostos em Fouquet et al. (2014).

As duas espécies do clado *A. hylaedactyla* (*A. hylaedactyla* e *A. diptyx*) possuem cantos curtos, pulsados, emitidos a uma alta taxa, com frequência dominante alta coincidente com o 2° harmônico e modulação de frequência positiva (Figura 6; Tabelas 5 e 6). Seus cantos as diferenciam entre si em parâmetros temporais (duração do canto, cantos/min.) e espectrais (frequência dominante, modulação de frequência). Contudo, a alta variabilidade acústica dentro do nome *A. hylaedactyla* não foi compatível com os padrões morfológicos e de coloração até certo ponto conservados para as populações analisadas, incluindo pelo menos um padrão acústico divergente qualitativamente do descrito acima (gravações obtidas no estado do Pará). A variação intraespecífica de *A. hylaedactyla* (morfologia, morfometria, padrões de coloração e vocalizações) é explorada com detalhe na seção seguinte.

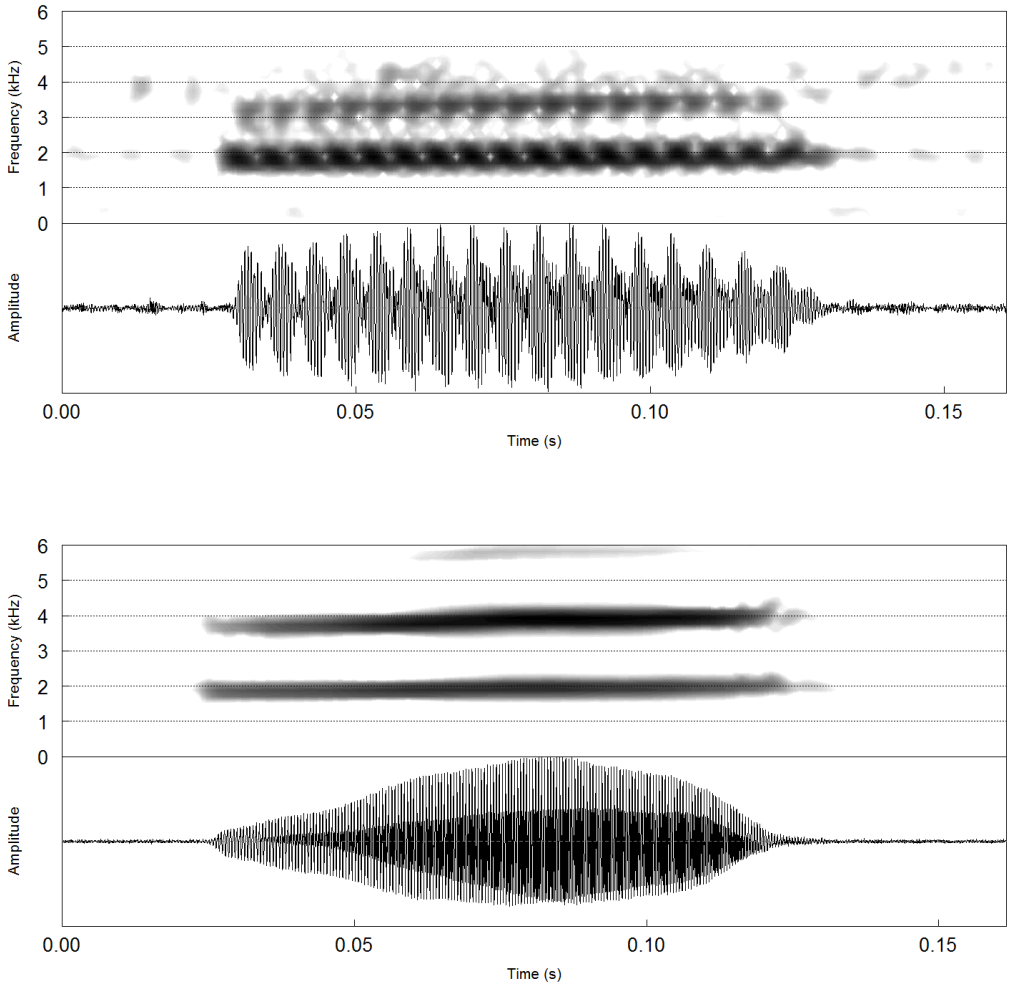
Figura 6 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) das espécies do clado *A. hylaedactyla*: *A. diptyx* (Cáceres, MT) e *A. hylaeadactyla* (Peru), respectivamente.



Fonte: Elaborada pelo autor

Embora as duas espécies do clado *A. martinezi*, i.e. *A. martinezi* e *A. saci*, tenham cantos com envelopes muito distintos, isto é, aquela possui canto pulsado, e esta, não pulsado (Figura 7), são muito similares em todos os outros parâmetros acústicos: cantos longos, emitidos a uma alta taxa, e com frequência dominante baixa coincidente com o 1° ou 2° harmônico (Tabelas 3-6). Além da diferença qualitativa no envelope temporal de seus cantos (presença/ausência de pulsos), que diferencia esse par de espécies morfologicamente crípticas, a única característica quantitativa que divergiu entre as espécies foi a modulação de frequência: ambas as espécies têm modulação positiva, mas cantos de *A. saci* têm modulação cerca de duas vezes maior do que a de cantos de *A. martinezi*.

Figura 7 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) das espécies do clado *A. martinezi*: *A. martinezi* (Novo Progresso, PA) e *A. saci* (Chapada dos Veadeiros, GO), respectivamente.

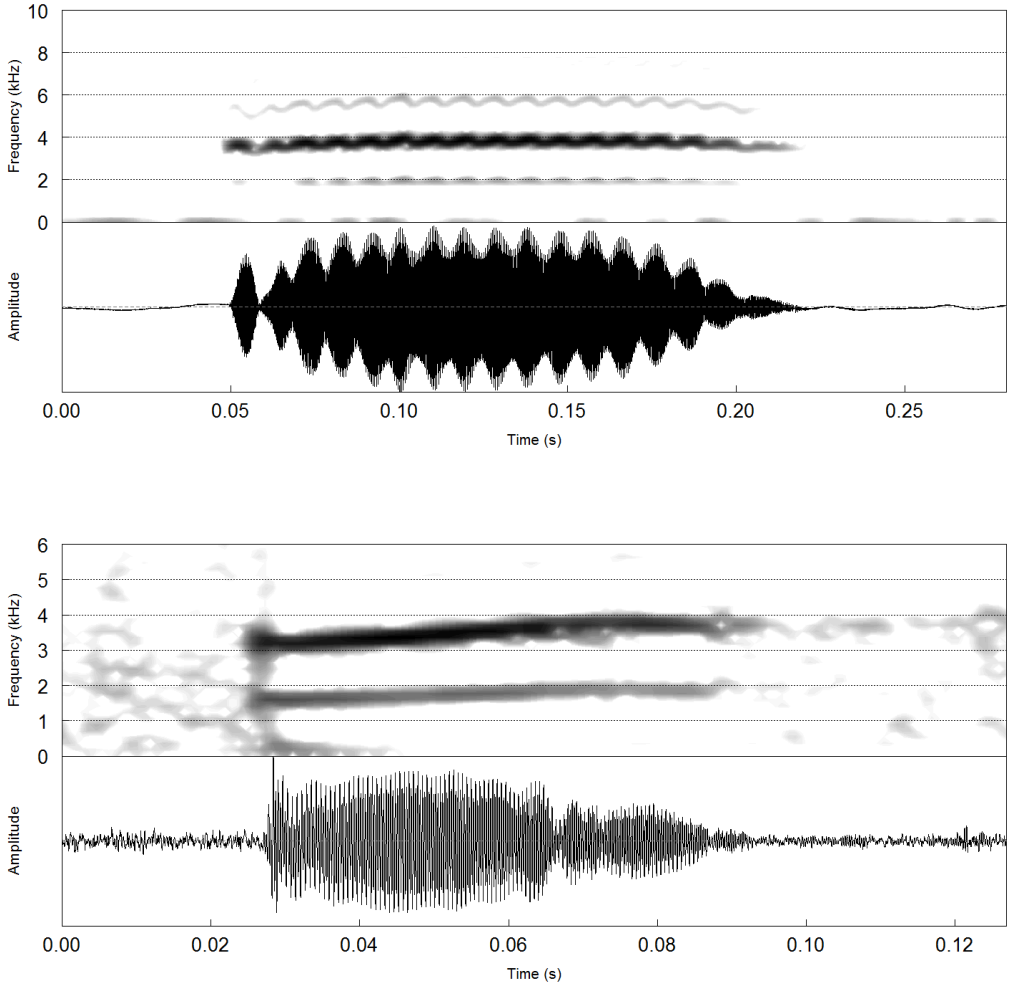


Fonte: Elaborada pelo autor

Vocalizações das espécies candidatas *Adenomera* sp. M e *Adenomera* sp. L do clado *A. thomei* não foram analisadas. A vocalização de anúncio de *A. thomei*, com base em populações dos estados de Minas Gerais e São Paulo, pode ser caracterizada como um canto pulsado, longo, emitido a uma baixa taxa, com uma frequência dominante alta coincidente com o 2° harmônico e com modulação positiva de frequência (Figura 8).

Vocalizações da espécie candidata do clado *A. lutzi* (*Adenomera* sp. P) não foram obtidas. A vocalização de anúncio de *A. lutzi* consiste em um canto não pulsado, curto, emitido a uma baixa taxa, com uma frequência dominante baixa coincidente com o 2° harmônico e com modulação positiva de frequência (Figura 8).

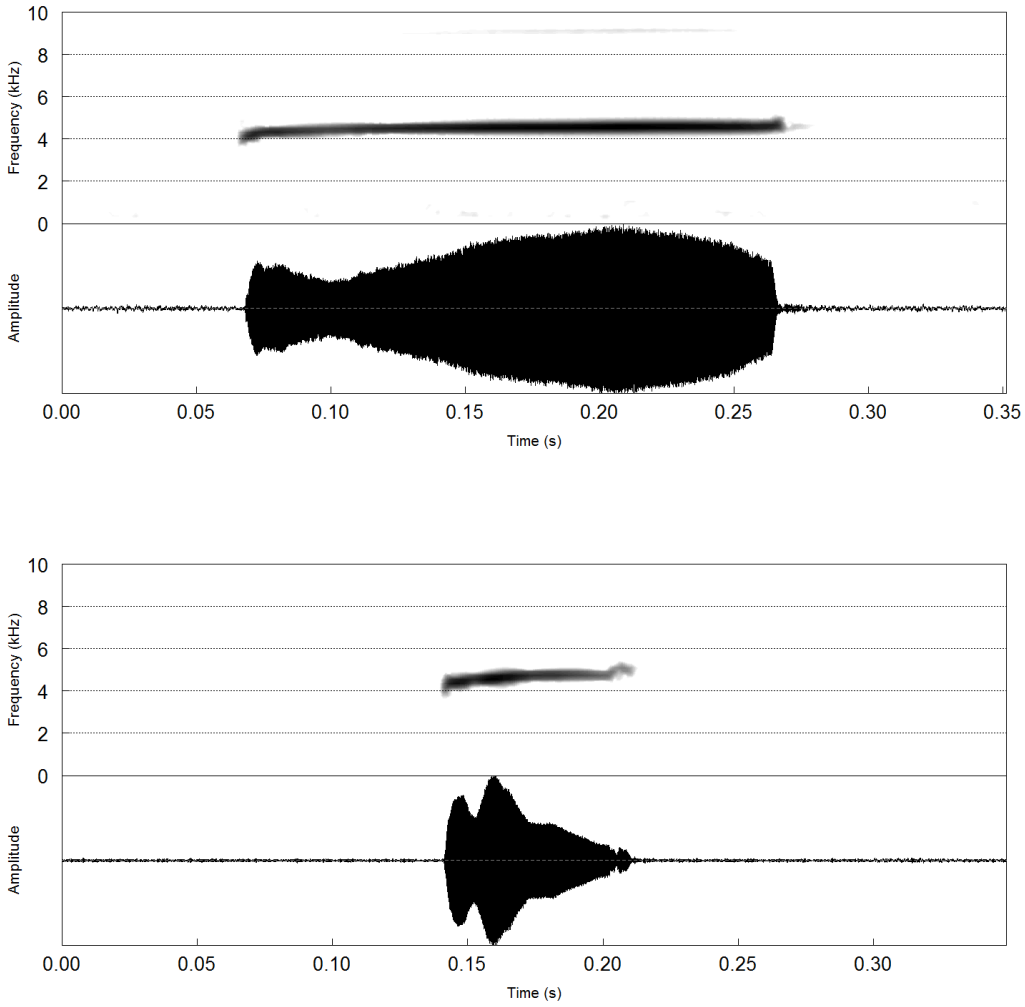
Figura 8 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de *A. thomei* (Itapeva, MG) e *A. lutzi* (Guiana), respectivamente.



Fonte: Elaborada pelo autor

O clado *A. marmorata* contém dois subclados. No subclado que contém as espécies do sudeste do Brasil, ambos os subgrupos possuem cantos não pulsados, emitidos a uma baixa taxa de repetição e com frequência dominante alta coincidente com o 1° harmônico (com uma exceção para *Adenomera* sp. A). As principais diferenças entre as espécies desse subclado foram observadas para a duração do canto e modulação de frequência. No subgrupo formado por *A. ajurauna* e *Adenomera* sp. S., os cantos dessas espécies são distintos em duração e taxa de emissão (Tabela 3; Figura 9).

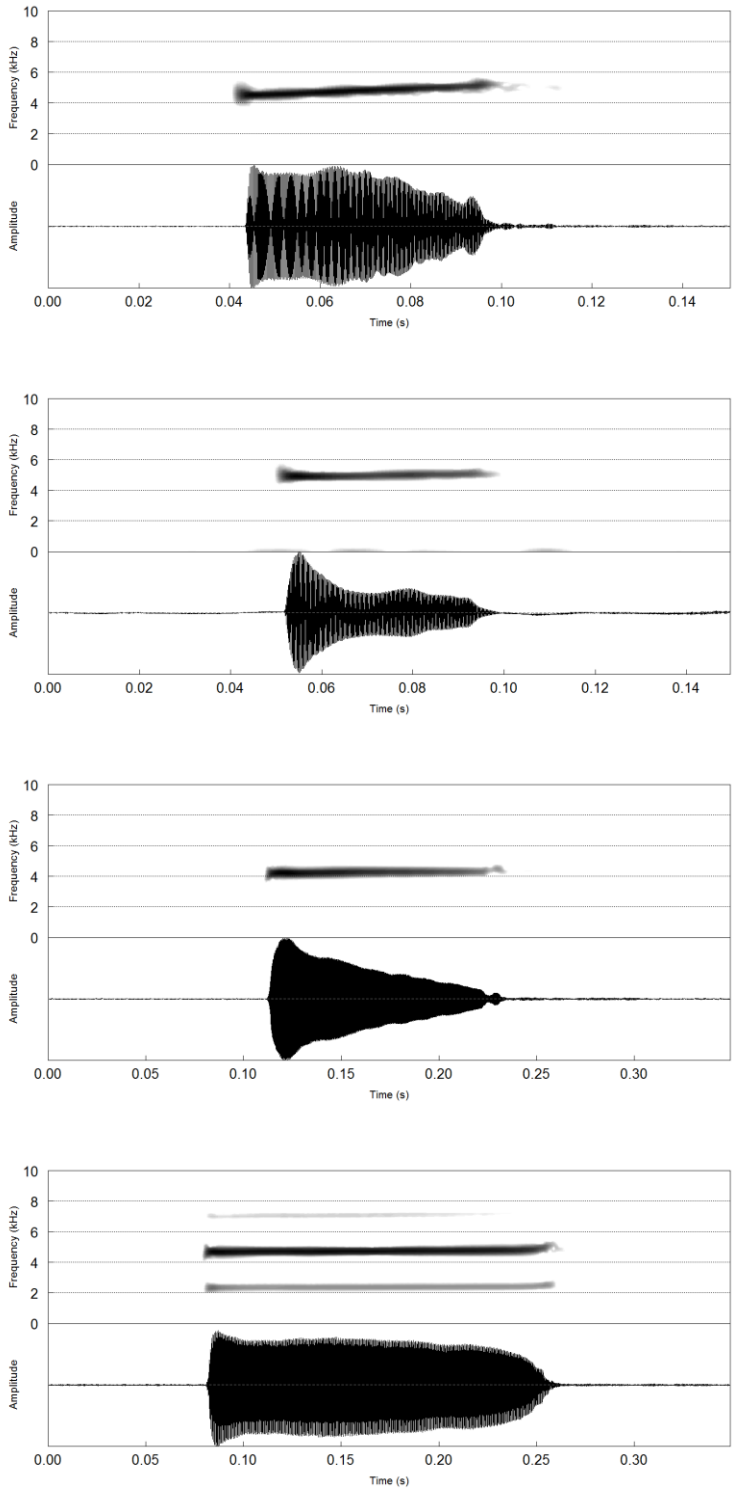
Figura 9 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de espécies do clado *A. marmorata* do sudeste do Brasil: *A. ajurauna* (Paranapiacaba, SP) e *Adenomera* sp. S (Apiaí, SP), respectivamente. É possível visualizar no espectrograma o segundo harmônico no canto de *A. ajurauna* (ca. 9 kHz).



Fonte: Elaborada pelo autor

No subgrupo que contém *A. marmorata* e as espécies candidatas “A”, “J” e “K”, os parâmetros acústicos principais (duração do canto, taxa de repetição, modulação de frequência e frequência dominante) foram variáveis dentro de cada grupo e entre eles, de modo que esses parâmetros tiveram uma grande sobreposição de valores (Tabelas 3 e 4; Figura 10). A variabilidade acústica das populações atribuídas a *A. marmorata*, *Adenomera* sp. J e *Adenomera* sp. K é explorada com detalhe na seção seguinte. Para uma das espécies candidatas (*Adenomera* sp. A, grupo irmão das outras três linhagens desse subgrupo), contudo, há uma característica qualitativa muito marcante na estrutura espectral do canto. Diferente das outras linhagens, que têm a frequência dominante coincidente com o 1° harmônico (frequência fundamental), essa espécie candidata possui a frequência dominante coincidente com o 2° harmônico, mas ocupam a mesma posição espectral, isto é, o intervalo de frequências contendo o 2° harmônico em *Adenomera* sp. A corresponde basicamente ao mesmo intervalo de frequências que contém o 1° harmônico nas outras espécies, fazendo com que a frequência fundamental de “sp. A” esteja na metade da frequência fundamental de *A. marmorata*, “sp. J” e “sp. K” (Figura 10).

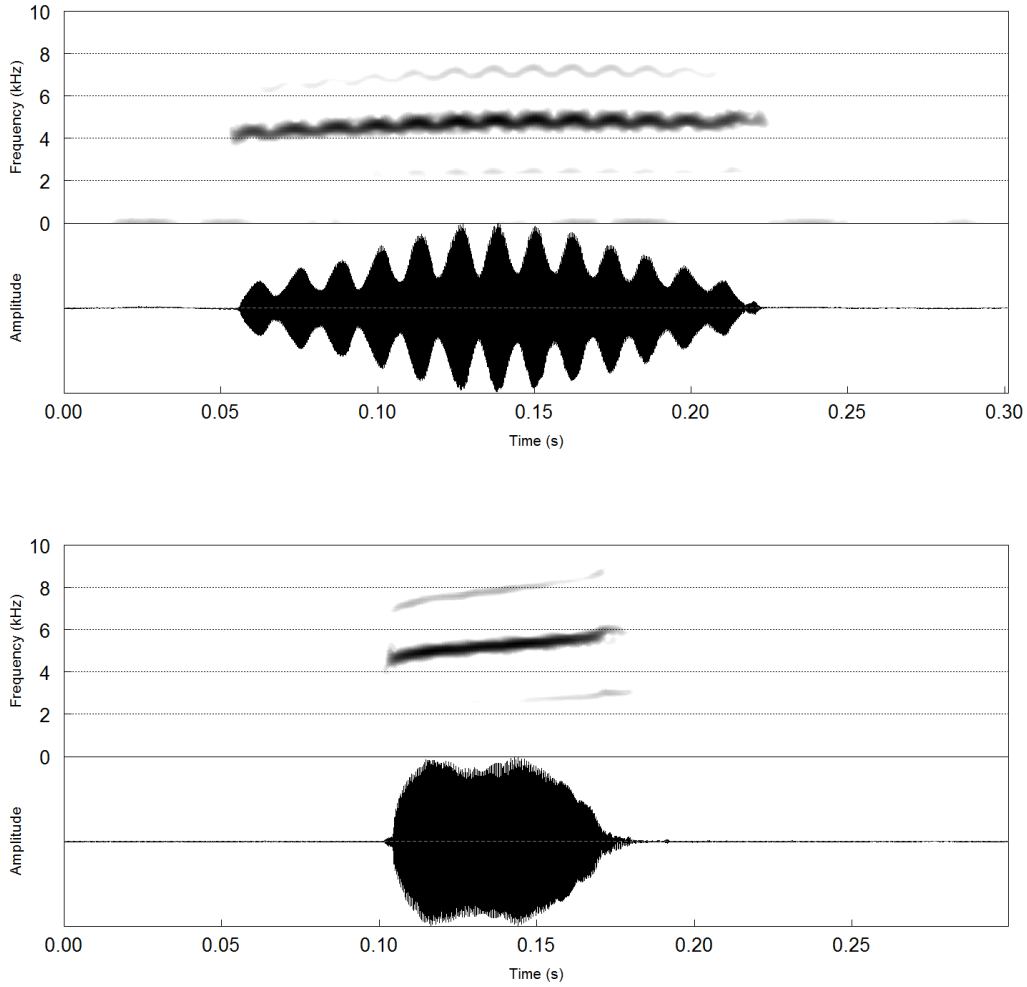
Figura 10 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de espécies do clado *A. marmorata* do sudeste do Brasil: *A. marmorata* (Rio de Janeiro, RJ), *Adenomera* sp. J (Salesópolis, SP), *Adenomera* sp. K (Chiador, MG) e *Adenomera* sp. A (Macaé, RJ), respectivamente.



Fonte: Elaborada pelo autor

No subclado que contém as espécies do sul do Brasil, um dos subgrupos é formado por *A. araucaria* e a espécie candidata *Adenomera* sp. R. Essas espécies possuem diferenças qualitativas marcantes em relação ao envelope de seus cantos: esta possui canto sem pulsos, enquanto aquela possui canto pulsado (Figura 11). Esse padrão converge ao padrão descrito acima para *A. martinezi* e *A. saci*. Embora outras diferenças tenham sido observadas em alguns parâmetros (duração do canto e frequência dominante), o baixo tamanho amostral para *Adenomera* sp. R (N = 1 indivíduo) limitou a quantificação da variabilidade acústica de sua vocalização.

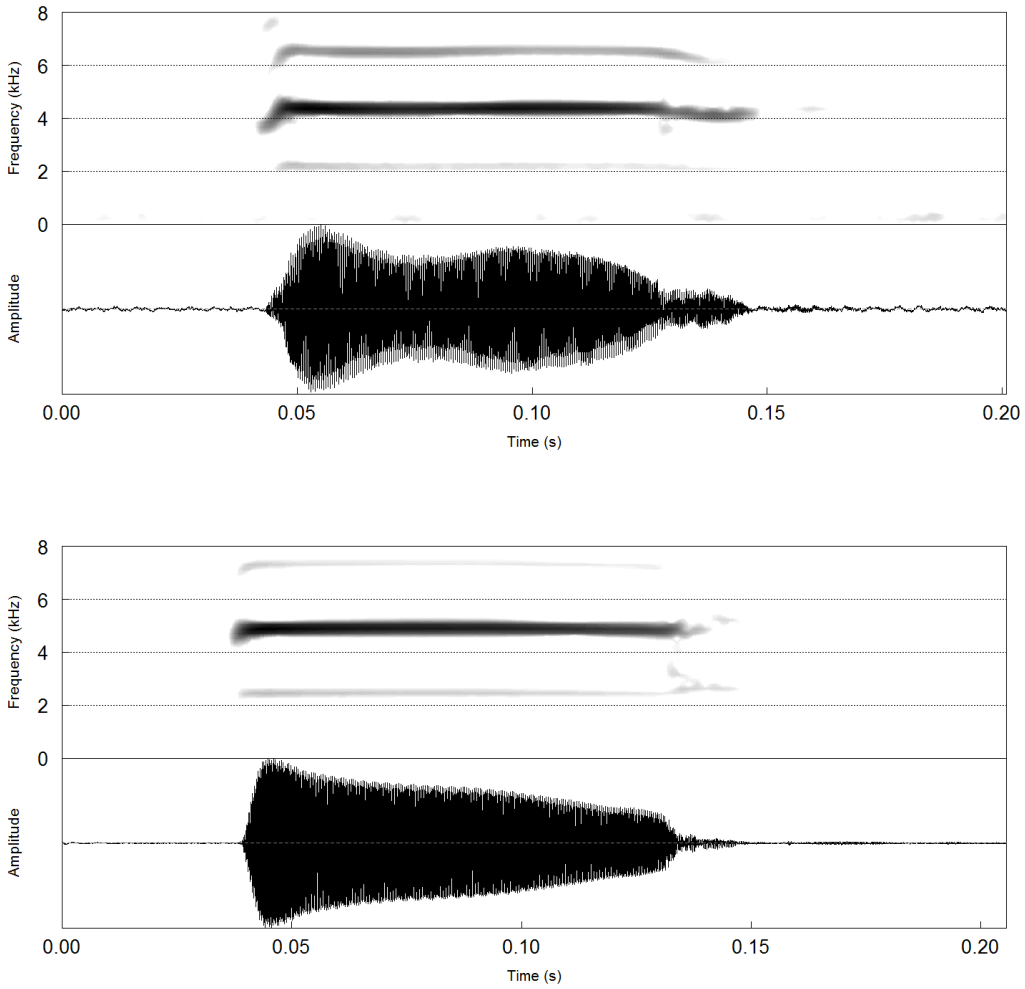
Figura 11 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de espécies do clado *A. marmorata* do sul do Brasil: *A. araucaria* (São Bento do Sul, SC) e *Adenomera* sp. R (Serra do Tabuleiro, SC), respectivamente.



Fonte: Elaborada pelo autor

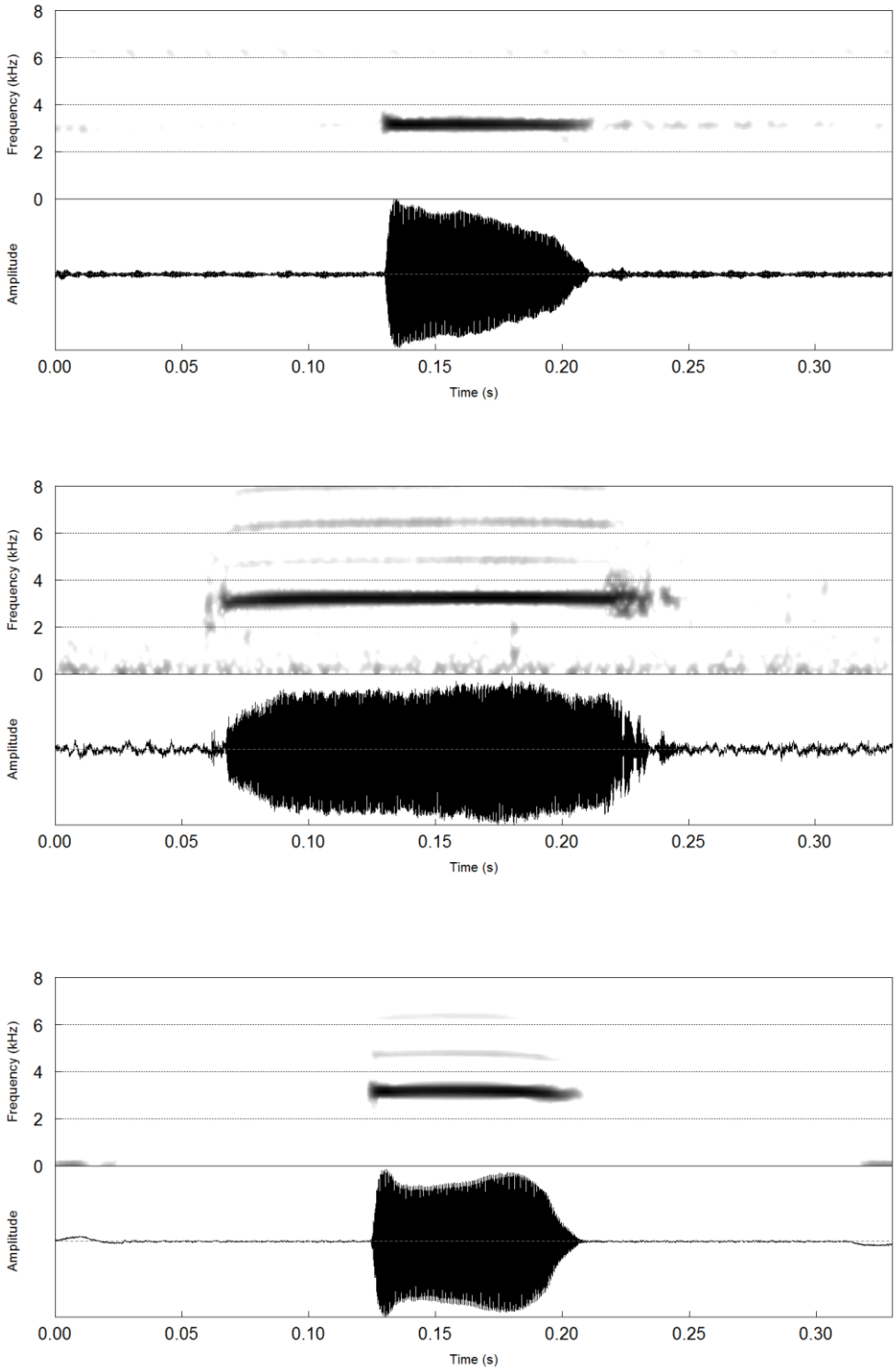
O outro subgrupo é formado por *A. bokermannni*, *A. engelsi*, *A. nana*, *Adenomera* sp. N e *Adenomera* sp. O. As vocalizações de anúncio desse subgrupo são comuns em consistirem em cantos não pulsados, sem modulação marcada de frequência e frequência dominante coincidente com o 2° harmônico. Os cantos de *A. engelsi*, *A. nana*, e de *A. bokermanni*, "sp. O" e "sp. N" se diferenciam no parâmetro espectral de frequência dominante (Tabela 4; Figuras 12-13), intermediária em *A. engelsi* (ca. 4 kHz em média), alta em *A. nana* (ca. 4,9 kHz em média), e baixa nas três últimas (3,1-3,2 kHz em média). Em contrapartida, os cantos *A. bokermanni*, "sp. O" e "sp. N" diferem entre si apenas nos parâmetros temporais de duração do canto e cantos por minuto. O baixo tamanho amostral para "sp. N" (N = 1 indivíduo) e "sp. O" (N = 2 indivíduos) limitou a avaliação dessas características acústicas para a diagnose entre essas espécies, mas indicam uma diferenciação potencial entre elas.

Figura 12 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de espécies do clado *A. marmorata* do sul do Brasil: *A. engelsi* (Florianópolis, SC) e *Adenomera nana* (São Bento do Sul, SC), respectivamente.



Fonte: Elaborada pelo autor

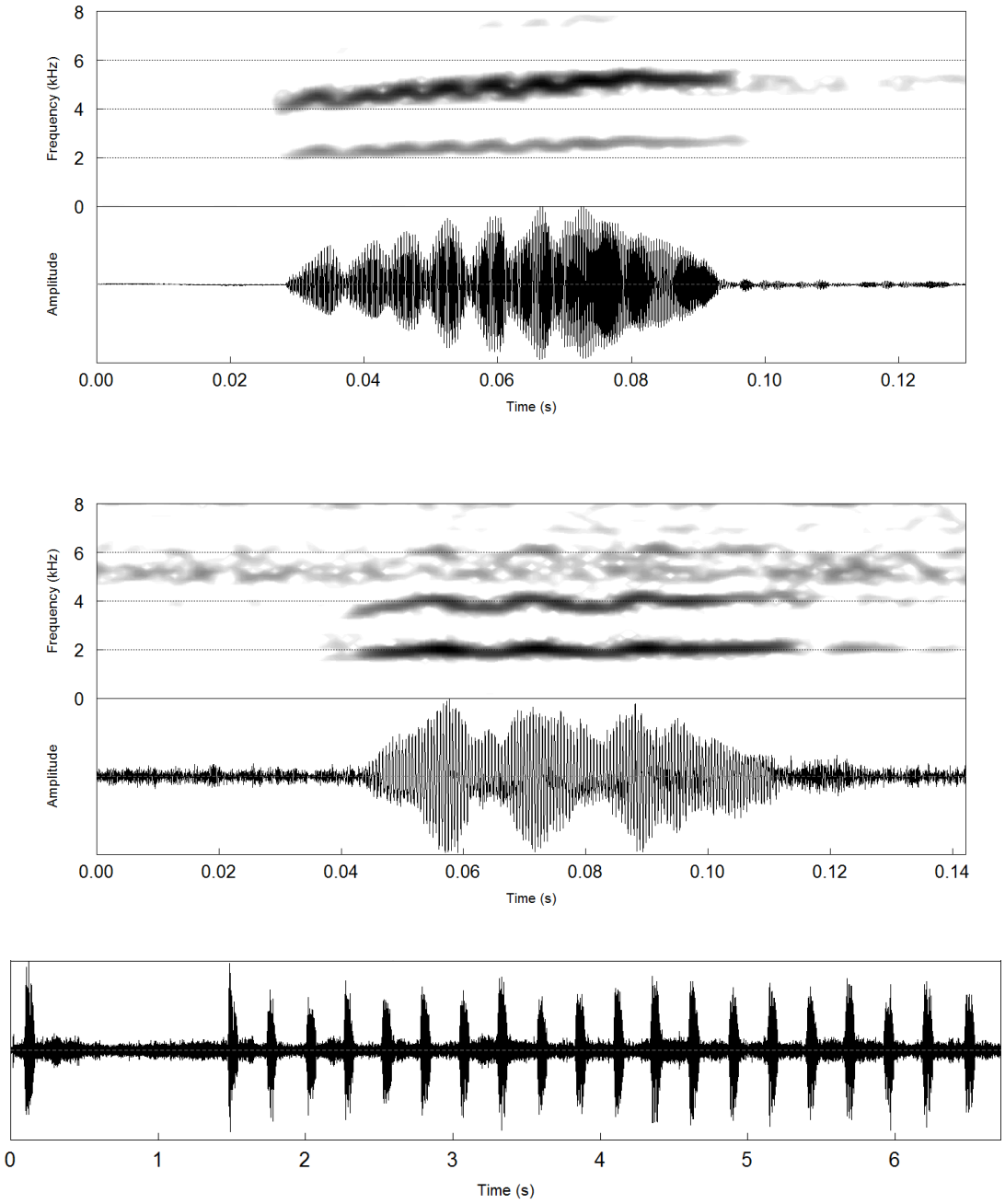
Figura 13 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de espécies do clado *A. marmorata* do sul do Brasil: *A. bokermanni* (Itapoá, SC), *Adenomera* sp. N (Morretes, PR) e *Adenomera* sp. O (Iguapé, SP), respectivamente.



Fonte: Elaborada pelo autor.

O clado *A. andreae* é formado por *A. andreae*, *A. simonstuarti* e quatro espécies candidatas, para as quais não há dados acústicos disponíveis. A vocalização de *A. andreae* (Figura 14) consiste em um canto pulsado, curto, com frequência dominante alta coincidente com o 2° harmônico e modulação de frequência positiva. A vocalização de *A. simonstuarti* (Figura 14), em contrapartida, tem um padrão de emissão peculiar: os cantos são emitidos em séries bem definidas (como descrito para *A. cotuba*; CARVALHO; GIARETTA, 2013b). Os cantos da série, assim como os de *A. andreae*, são pulsados, curtos, e com modulação de frequência positiva. Todavia, a frequência dominante do canto de *A. simonstuarti* é coincidente com o 1° harmônico (2° harmônico em *A. andreae*).

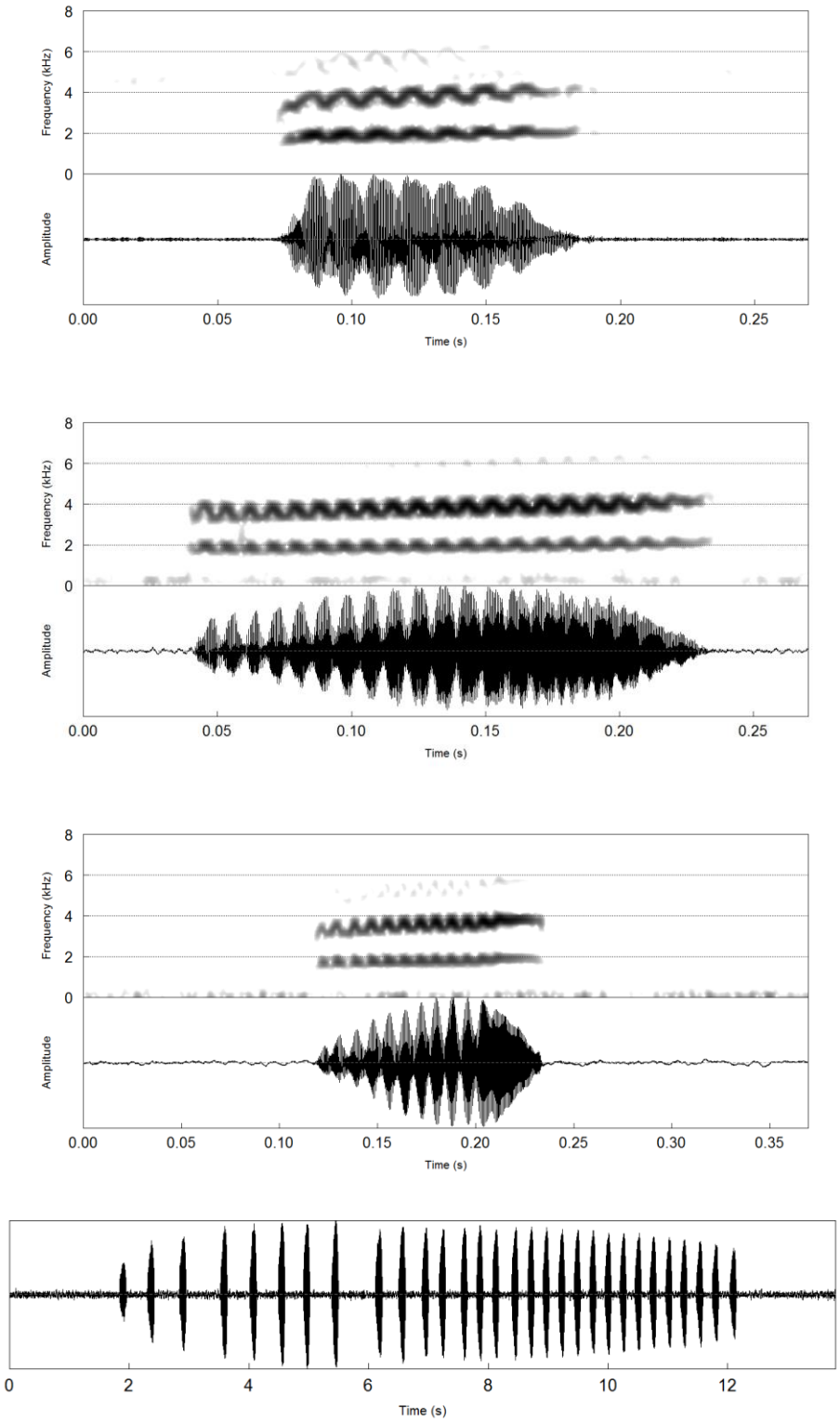
Figura 14 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de espécies do clado *A. andreae*: *A. andreae* (Nova Timboteua, PA) e *A. simonstuarti* (Peru), respectivamente, e oscilograma da série completa de cantos de *A. simonstuarti*.



Fonte: Elaborada pelo autor

O clado contém *A. heyeri*, *A. cotuba* (=*Adenomera* sp. H), *A. juikitam* (=*Adenomera* sp. I) e espécies candidatas, para as quais não há dados acústicos disponíveis. As três espécies possuem cantos pulsados, longos e com modulação de frequência positiva. O padrão de emissão dos cantos em *A. cotuba* (Figura 15) é peculiar e a discrimina das outras duas espécies, pois emite os cantos em séries bem definidas (CARVALHO; GIARETTA, 2013b). Os cantos de *A. heyeri* e *A. juikitam* diferem entre si nos principais parâmetros temporais: duração do canto, cantos/min., pulsos por canto (Tabelas 5-6; Figura 15). A frequência dominante do canto dessas espécies é coincidente com o 1° harmônico (*A. heyeri*), 2° harmônico (*A. juikitam*), e 1° ou 2° harmônico (*A. cotuba*).

Figura 15 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de espécies do clado *A. heyeri*: *A. heyeri* (Guiana Francesa), *A. cotuba* (Teresina de Goiás, GO) e *A juikitam* (Teresina de Goiás, GO), respectivamente, e oscilograma da série completa de cantos de *A. cotuba*.



Fonte: Elaborada pelo autor

Tabela 3 (continua) – Parâmetros (média, desvio padrão e coeficiente de variação percentual) das principais variáveis temporais dos cantos de anúncio para as espécies de *Adenomera* com canto não pulsado. Descritores estatísticos: Média±DP (CV). N = indivíduos analisados.

Espécies (N)	**Parâmetros temporais/amplitude**								
	DC (ms)	**PA (%)**	**DA (%)**	**DP (%)**	**DQ (%)**	**FCA**	**FCQ**	**CM (min^{-1})**	**FC**
***A. ajurauna* (6)**	200,3±37,3 (18,6)	45,8±18,4 (39,4)	33,2±17,7 (53,4)	17,6±8,2 (46,4)	42,8±19,6 (45,8)	0,26±0,17 (63,7)	0,17±0,09 (54,6)	24,0±4,8 (20,0)	1,95±0,10 (5,0)
***A. bokermanni* (8)**	82,3±7,9 (9,6)	9,8±5,4 (54,8)	5,0±2,2 (44,1)	15,8±13,9 (88,0)	79,1±15,3 (19,3)	0,34±0,08 (23,0)	0,37±0,23 (63,2)	62,1±16,9 (27,3)	2,17±0,44 (20,3)
***A. engelsi* (7)**	129,4±19,4 (15,0)	30,3±20,5 (67,6)	22,9±16,6 (72,5)	19,7±10,3 (52,4)	57,5±23,7 (41,3)	0,28±0,18 (64,2)	0,32±0,09 (28,2)	16,1±4,5 (27,9)	2,08±0,21 (9,9)
***A. lutzi* (2)**	62,3±5,8 (9,3)	21,5±12,4 (57,7)	18,1±11,6 (64,1)	7,3±0,7 (9,8)	74,6±12,3 (16,5)	0,60±0,03 (4,7)	0,53±0,31 (58,4)	20,4±5,0 (24,6)	2,52±0,11 (4,2)
***A. marmorata* (6)**	49,5±12,1 (24,4)	17,4±12,5 (71,7)	15,0±12,3 (82,1)	5,7±1,3 (23,3)	79,2±12,9 (16,2)	0,44±0,07 (16,8)	0,54±0,12 (22,3)	35,6±19,0 (53,5)	2,35±0,19 (7,9)
***A. nana* (13)**	90,3±15,4 (17,0)	9,6±2,9 (29,7)	6,9±2,5 (35,6)	6,7±2,0 (29,3)	86,3±3,6 (4,2)	0,37±0,07 (17,8)	0,29±0,07 (24,3)	22,7±5,5 (24,0)	2,09±0,12 (5,8)
***A. saci* (20)**	131,4±34,3 (26,1)	65,1±8,4 (12,9)	52,4±10,8 (20,5)	23,9±7,7 (32,2)	23,7±5,5 (23,2)	0,42±0,08 (18,4)	0,34±0,09 (25,9)	120,1±25,0 (20,8)	2,51±0,18 (7,2)

Variáveis temporais: DC (duração do canto), PA (pico de amplitude), DA (duração do ataque), DP (duração do platô), DQ (duração da queda), FCA (formato do canto no ataque; sem unidade), FCQ (formato do canto na queda; sem unidade), CM (taxa de repetição de cantos); Variáveis de amplitude: FC (fator de crista; sem unidade).

Tabela 3 (conclusão) – Parâmetros (média, desvio padrão e coeficiente de variação percentual) das principais variáveis temporais dos cantos de anúncio para as espécies de *Adenomera* com canto não pulsado. Descritores estatísticos: Média±DP (CV). N = indivíduos analisados.

Espécies (N)	**Parâmetros temporais/amplitude**								
	DC (ms)	**PA (%)**	**DA (%)**	**DP (%)**	**DQ (%)**	**FCA**	**FCQ**	**CM (min^{-1})**	**FC**
"sp. A" (2)	165,0±6,2 (3,7)	2,7±0,7 (27,3)	2,4±0,5 (21,2)	0,6±0,5 (93,3)	97,0±1,0 (1,1)	0,29±0,03 (10,4)	0,16±0,08 (48,8)	55,2±2,6 (4,7)	2,17±0,02 (0,9)
"sp. J" (13)	30,3±6,5 (21,4)	9,2±2,6 (28,0)	5,4±2,0 (37,1)	10,8±4,8 (43,9)	83,8±4,9 (5,8)	0,37±0,07 (19,2)	0,56±0,15 (26,1)	57,5±12,6 (21,9)	2,45±0,20 (8,3)
"sp. K" (6)	102,7±28,5 (27,7)	5,6±2,3 (41,1)	5,4±2,3 (42,3)	0,2±0,2 (67,4)	94,3±2,3 (2,5)	0,26±0,03 (13,3)	0,61±0,24 (38,4)	47,4±6,5 (13,8)	2,44±0,18 (7,5)
"sp. N" (1)	163,8±7,7 (4,7)	59,7±12,1 (20,3)	50,8±9,8 (19,3)	16,6±11,4 (69,1)	32,6±16,0 (48,9)	0,09±0,07 (82,7)	0,20±0,09 (47,7)	37,8	1,92±0,18 (9,4)
"sp. O" (2)	81,5±4,0 (4,9)	7,1±1,8 (25,6)	3,6±0,5 (14,0)	7,2±1,9 (27,0)	89,2±2,5 (2,7)	0,38±0,04 (10,4)	0,12±0,03 (23,0)	104,0±4,5 (4,3)	1,99±0,17 (8,7)
"sp. R" (1)	62,2±6,6 (10,7)	52,9±22,2 (41,9)	45,0±19,0 (42,2)	18,3±6,5 (35,6)	36,8±21,4 (58,3)	0,11±0,07 (64,2)	0,18±0,09 (50,4)	25,7	1,84±0,05 (2,8)
"sp. S" (14)	55,1±22,1 (40,1)	19,4±12,2 (62,5)	16,5±12,5 (76,0)	6,6±6,8 (103,8)	76,9±12,3 (16,0)	0,34±0,08 (23,3)	0,63±0,20 (31,2)	55,0±17,5 (31,7)	2,37±0,31 (13,0)

Fonte: Elaborada pelo autor

Variáveis temporais: DC (duração do canto), PA (pico de amplitude), DA (duração do ataque), DP (duração do platô), DQ (duração da queda), FCA (formato do canto no ataque; sem unidade), FCQ (formato do canto na queda; sem unidade), CM (taxa de repetição de cantos); Variáveis de amplitude: FC (fator de crista; sem unidade).

Tabela 4 (continua) – Estatística descritiva (média, desvio padrão e coeficiente de variação percentual) das principais variáveis espectrais dos cantos de anúncio para as espécies de *Adenomera* com canto não pulsado. Descritores estatísticos: Média±DP (CV). N = indivíduos analisados.

Espécies (N)	**Parâmetros espectrais/amplitude**						
	FF (Hz)	**FD (Hz)**	**MLF (Hz)**	**LB (Hz)**	**FDA (Hz)**	**FDQ (Hz)**	**H1/H2**
***A. ajurauna* (6)**	4536±95 (2,1)	4562±90 (2,0)	456±143 (31,3)	168±11 (6,4)	4210±119 (2,8)	4666±40 (0,9)	450,22±425,72 (94,6)
***A. bokermanni* (8)**	1561±60 (3,9)	3122±118 (3,8)	-59±71 (120,6)	179±31 (17,3)	3121±133 (4,2)	3062±87 (2,8)	$2,18\times10^{-2}\pm1,56\times10^{-2}$ (71,7)
***A. engelsi* (7)**	2005±85 (4,2)	4015±165 (4,1)	35±153 (434,7)	168±6 (3,5)	3949±212 (5,4)	3984±67 (1,7)	$4,21\times10^{-2}\pm5,96\times10^{-2}$ (141,4)
***A. lutzi* (2)**	1659±89 (5,4)	3454±217 (6,3)	507±13 (2,5)	335±28 (8,4)	3194±87 (2,7)	3701±74 (2,0)	0,27±0,15 (55,6)
***A. marmorata* (6)**	4473±87 (1,9)	4523±93 (2,0)	300±157 (52,2)	267±33 (12,4)	4423±97 (2,2)	4722±180 (3,8)	156,3±95,8 (61,3)
***A. nana* (13)**	2469±113 (4,6)	4942±229 (4,6)	7±127 (1691,7)	175±18 (10,1)	4931±226 (4,6)	4939±230 (4,7)	$2,49\times10^{-2}\pm1,29\times10^{-2}$ (52,0)
***A. saci* (20)**	1942±113 (5,8)	3800±200 (5,3)	242±89 (36,7)	178±6 (3,3)	3709±222 (6,0)	3951±198 (5,0)	1,29±1,37 (105,8)

Variáveis espectrais: FF (frequência fundamental), FD (frequência dominante absoluta), MLF (modulação linear de frequência), LB (largura de banda), FDA (frequência dominante do ataque; sem unidade), FDQ (frequência dominante da queda; sem unidade); H1/H2 (razão entre o pico da amplitude dos dois primeiros harmônicos).

Tabela 4 (conclusão) – Estatística descritiva (média, desvio padrão e coeficiente de variação percentual) das principais variáveis espectrais dos cantos de anúncio para as espécies de *Adenomera* com canto não pulsado. Descritores estatísticos: Média±DP (CV). N = indivíduos analisados.

Espécies (N)	**Parâmetros espectrais/amplitude**						
	FF (Hz)	**FD (Hz)**	**MLF (Hz)**	**LB (Hz)**	**FDA (Hz)**	**FDQ (Hz)**	**H1/H2**
“sp. A” (2)	2381±28 (1,2)	4780±48 (1,0)	140±54 (38,9)	181±3 (1,7)	4757±51 (1,1)	4897±3 (0,1)	0,15±0,04 (28,2)
“sp. J” (13)	4901±320 (6,5)	4910±329 (6,7)	99±77 (77,6)	261±34 (13,0)	4903±319 (6,5)	5002±338 (6,8)	183,9±112,2 (61,0)
“sp. K” (6)	4214±83 (2,0)	4219±88 (2,1)	115±40 (34,9)	221±30 (13,5)	4220±82 (1,9)	4307±112 (2,6)	334,5±323,7 (96,8)
“sp. N” (1)	1599±11 (0,7)	3193±23 (0,7)	126±131 (104,0)	174±5 (3,1)	3028±66 (2,2)	3154±107 (3,4)	$1,25\times10^{-2}\pm1,61\times10^{-2}$ (128,7)
“sp. O” (2)	1523±68 (4,5)	3053±137 (4,5)	-116±5 (4,3)	173±3 (1,7)	3050±141 (4,6)	2934±146 (5,0)	$1,13\times10^{-2}\pm1,55\times10^{-3}$ (13,6)
“sp. R” (1)	2611±83 (3,2)	5161±101 (2,0)	790±94 (11,9)	287±17 (5,9)	4759±22 (0,5)	5548±96 (1,7)	$3,06\times10^{-2}\pm7,90\times10^{-3}$ (25,8)
“sp. S” (14)	4691±521 (11,1)	4753±488 (10,3)	502±223 (44,4)	333±69 (20,8)	4564±566 (12,4)	5065±405 (8,0)	254,9±194,2 (76,2)

Fonte: Elaborada pelo autor

Variáveis espectrais: FF (frequência fundamental), FD (frequência dominante absoluta), MLF (modulação linear de frequência), LB (largura de banda), FDA (frequência dominante do ataque), FDQ (frequência dominante da queda); H1/H2 (razão entre o pico da amplitude dos dois primeiros harmônicos).

Tabela 5 – Estatística descritiva (média, desvio padrão e coeficiente de variação percentual) das principais variáveis temporais dos cantos de anúncio para as espécies de *Adenomera* com canto pulsado. Descritores estatísticos: Média±DP (CV). N = indivíduos analisados.

Espécies (N)	**Parâmetros temporais/amplitude**								
	DC (ms)	**PA (%)**	**DP (ms)**	**FPA**	**FPQ**	**NP**	**PS (s^{-1})**	**CM (min^{-1})**	**FC**
***A. andreae* (18)**	58,0±5,5 (9,5)	48,6±10,0 (20,6)	12,9±6,7 (51,7)	0,27±0,06 (20,9)	0,31±0,05 (14,8)	5,7±2,1 (36,6)	118,6±34,0 (28,7)	54,6±11,4 (20,8)	2,26±0,12 (5,4)
***A. araucaria* (10)**	167,5±36,2 (21,6)	48,5±14,3 (29,5)	16,6±6,5 (39,2)	0,33±0,10 (29,5)	0,33±0,10 (31,6)	10,6±3,1 (28,9)	67,1±13,7 (20,4)	32,8±8,1 (24,8)	2,05±0,09 (4,6)
***A. coca* (1)**	128,1±2,5 (1,9)	38,2±13,0 (34,0)	11,0±0,9 (8,6)	0,27±0,05 (19,4)	0,34±0,04 (12,5)	11	109,7±5,2 (4,7)	59,3	2,25±0,06 (2,8)
***A. cotuba* (13)**	102,7±9,5 (9,3)	53,2±10,2 (19,2)	9,2±1,3 (14,4)	0,39±0,05 (13,3)	0,42±0,08 (18,5)	11,3±2,0 (17,6)	130,1±18,2 (14,0)	161,3±33,0 (20,4)	2,42±0,13 (5,5)
***A. diptyx* (15)**	31,3±4,3 (13,6)	32,6±11,7 (35,9)	18,8±6,4 (34,3)	0,30±0,09 (29,6)	0,41±0,11 (26,9)	2,1±1,0 (48,3)	119,3±31,8 (26,6)	219,7±51,4 (23,4)	2,35±0,16 (6,8)
***A. heyeri* (1)**	105,4±3,4 (3,2)	24,0±7,0 (29,2)	18,8±4,2 (22,4)	0,24±0,11 (44,1)	0,20±0,11 (53,0)	5,9±1,3 (23,1)	82,2±4,7 (5,7)	23,3	2,22±0,10 (4,6)
***A. hylaedactyla* (18)**	58,2±9,3 (15,9)	32,5±8,5 (26,1)	9,6±3,1 (32,6)	0,39±0,11 (28,2)	0,46±0,09 (18,5)	6,5±1,4 (21,3)	143,9±11,7 (8,1)	158,9±31,8 (20,0)	2,35±0,17 (7,4)
***A. juikitam* (11)**	175,3±18,8 (10,7)	53,9±10,1 (18,8)	9,4±1,3 (14,2)	0,36±0,07 (19,2)	0,39±0,03 (7,7)	18,3±3,1 (17,1)	113,5±11,1 (9,7)	43,5±5,5 (12,7)	2,30±0,10 (4,5)
***A. martinezi* (15)**	111,9±11,8 (10,5)	52,2±8,2 (15,7)	6,3±0,6 (8,8)	0,44±0,07 (16,8)	0,54±0,08 (14,5)	17,6±1,8 (10,3)	169,6±11,1 (6,6)	124,3±15,7 (12,6)	2,44±0,22 (8,9)
***A. simonstuarti* (1)**	66,7±2,7 (4,0)	34,8±16,3 (46,9)	21,6±1,6 (7,6)	0,42±0,14 (34,2)	0,61±0,13 (21,5)	3	65,3±4,5 (7,0)	188,2	2,77±0,17 (6,3)
***A. thomei* (7)**	143,3±10,4 (7,3)	41,7±15,2 (36,4)	10,0±2,3 (23,0)	0,23±0,10 (41,5)	0,25±0,09 (37,6)	14,0±3,0 (21,0)	103,1±21,1 (20,5)	46,5±12,0 (25,7)	1,95±0,05 (2,7)

Fonte: Elaborada pelo autor

Variáveis temporais: DC (duração do canto), PA (pico de amplitude), DP (duração média do pulso), FPA (formato médio do pulso no ataque; sem unidade), FPQ (formato médio do pulso na queda; sem unidade), NP (número de pulsos por canto), PS (taxa de repetição de pulsos), CM (taxa de repetição de cantos; por minuto), FC (fator de crista médio dos pulsos; sem unidade).

Tabela 6 – Estatística descritiva (média, desvio padrão e coeficiente de variação percentual) das principais variáveis espectrais dos cantos de anúncio para as espécies de *Adenomera* com canto pulsado. Descritores estatísticos: Média±DP (CV). N = indivíduos analisados.

Espécies (N)	**Parâmetros espectrais/amplitude**							
	FF (Hz)	**FD (Hz)**	**MLF (Hz)**	**FDQ1**	**FDQ2**	**FDQ3**	**FDQ4**	**H1/H2**
***A. andreae* (18)**	2365±54 (2,3)	4770±148 (3,1)	515±173 (33,6)	4533±86 (1,9)	4693±120 (2,6)	4805±133 (2,8)	4941±116 (2,3)	0,26±0,13 (48,9)
***A. araucaria* (10)**	2263±90 (4,0)	4590±210 (4,6)	767±166 (21,6)	4398±169 (3,9)	4572±205 (4,5)	4667±217 (4,7)	4711±213 (4,5)	$4,21\times10^{-2}\pm1,69\times10^{-2}$ (40,2)
***A. coca* (1)**	1864±4 (0,2)	3732±18 (0,5)	101±52 (51,9)	3718±18 (0,5)	3747±36 (1,0)	3732±18 (0,5)	3761±32 (0,9)	0,34±0,07 (20,0)
***A. cotuba* (13)**	1697±83 (4,9)	3638±70 (1,9)	391±98 (25,1)	3443±93 (2,7)	3585±58 (1,6)	3617±62 (1,7)	3649±58 (1,6)	1,83±1,70 (93,0)
***A. diptyx* (15)**	2401±150 (6,3)	4850±292 (6,0)	405±162 (40,0)	4747±287 (6,0)	4833±281 (5,8)	4924±271 (5,5)	5017±296 (5,9)	0,27±0,24 (91,1)
***A. heyeri* (1)**	1942±27 (1,4)	1871±57 (3,0)	409±68 (16,6)	1863±48 (2,6)	2026±462 (22,8)	1996±21 (1,1)	2115±482 (22,8)	2,77±0,77 (27,9)
***A. hylaedactyla* (18)**	2008±88 (4,4)	4051±175 (4,3)	199±155 (77,8)	3979±166 (4,2)	4043±179 (4,4)	4078±185 (4,5)	4084±192 (4,7)	0,34±0,19 (56,5)
***A. juikitam* (11)**	2102±182 (8,6)	4319±373 (8,6)	569±247 (43,4)	4080±352 (8,6)	4263±380 (8,9)	4321±375 (8,7)	4347±384 (8,8)	0,21±0,14 (68,8)
***A. martinezi* (15)**	1903±58 (3,1)	1924±90 (4,7)	82±48 (58,3)	1885±75 (4,0)	1914±77 (4,0)	1935±85 (4,4)	1944±80 (4,1)	24,91±53,22 (213,7)
***A. simonstuarti* (1)**	1995±12 (0,6)	1964±14 (0,7)	206±43 (21,0)	1960	1983±27 (1,3)	2010±22 (1,1)	2010±17 (0,8)	2,62±1,03 (39,4)
***A. thomei* (7)**	1987±122 (6,1)	4017±179 (4,5)	21±109 (511,1)	3908±184 (4,7)	4033±220 (5,5)	4088±283 (6,9)	4019±241 (6,0)	$4,02\times10^{-2}\pm2,05\times10^{-2}$ (50,9)

Fonte: Elaborada pelo autor

Variáveis espectrais: FF (frequência fundamental média dos pulsos), FD (frequência dominante absoluta), MLF (modulação linear de frequência), FDQ1 (frequência dominante no primeiro quartil), FDQ2 (frequência dominante no segundo quartil), FDQ3 (frequência dominante no terceiro quartil), FDQ4 (frequência dominante no quarto quartil), H1/H2 (razão entre o pico da amplitude dos dois primeiros harmônicos).

4.3 Padrões de variação em nível individual, populacional e específico

As análises acústicas mostraram que as variáveis temporais tenderam a ser muito mais variáveis do que as espectrais para todas as espécies (Tabelas 3-6). Ressalvas devem ser feitas para a variável espectral de modulação linear de frequência, que variou tanto quanto as variáveis temporais nas espécies; e as variáveis de amplitude de fator de crista e razão da energia sonora entre os dois primeiros harmônicos, que foi muito pouco variável e muito variável, respectivamente (Tabelas 3-6). Em nível populacional, a variação apresentou padrões distintos para espécies e variáveis, porém a limitação no tamanho amostral de indivíduos para cada uma das populações da grande maioria delas foi restritiva nas suposições quanto à variação geográfica das vocalizações. Os principais padrões de variação e reconhecimento nos três níveis de análise são descritos nos próximos parágrafos dessa seção.

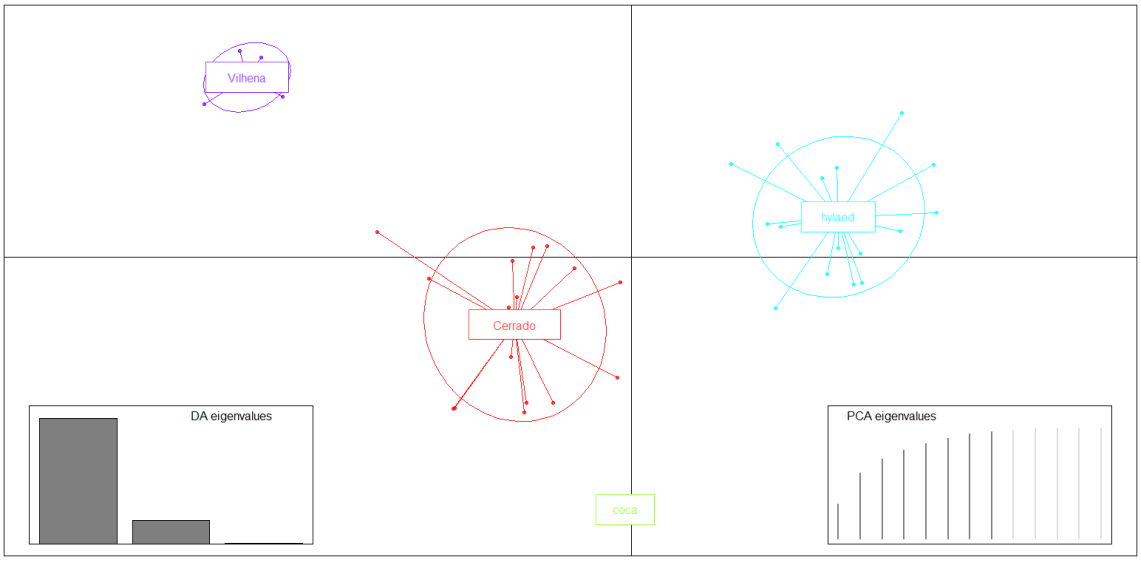
Em nível individual, foi observado que a duração do canto de *A. andreae* (N = 18 indivíduos) se comportou como uma propriedade estática (2,1-8,0%; Média = 5,0), mas foi classificada como uma propriedade intermediária tendendo a dinâmica quando populações foram o nível de análise (Amazonas e Pará; CV médio em torno de 10% para ambas), bem como para toda a variação contida na espécie (Tabela 5). Por sua vez, os outros caracteres temporais e a modulação linear de frequência foram muito variáveis e considerados propriedades dinâmicas em todos os níveis de análise, enquanto as variáveis espectrais se mantiveram como propriedades estáticas em todos eles. Em *A. martinezi*, o padrão de baixa variação em todos os níveis de análise foi identificado para parâmetros microtemporais do canto (duração do pulso e taxa de repetição de pulsos; Tabela 5). Em populações de *A. cotuba* e *A. juikitam* (Apêndice B), as variáveis espectrais, especialmente a frequência fundamental, tenderam a ser peculiares a cada das populações. O mesmo padrão foi observado para populações de *A. hylaedactyla* (dados apresentados na seção 4.4).

Em *A. hylaedactyla*, padrões de coloração e caracteres analisados da morfologia externa para todas as populações foram consistentes com o morfótipo associado historicamente a esse nome (HEYER, 1973; ANGULO et al., 2003). Contudo, pelo menos três padrões acústicos distintos foram reconhecidos dentro desse morfótipo. O padrão acústico associado historicamente ao nome *A. hylaedactyla* (Tabelas 5 e 6) é compartilhado pelas populações amazônicas brasileiras (AM e RR) e não brasileira (Peru) e convencionou-se aplicar o nome da espécie nominal (*A. hylaedactyla*) a elas. Esse padrão foi descrito

anteriormente nos Resultados (seção 4.2). Brevemente, é um sinal acústico curto, pulsado, emitido a uma alta taxa, com frequência dominante alta coincidente com o 2° harmônico e modulação de frequência positiva (Figura 6).

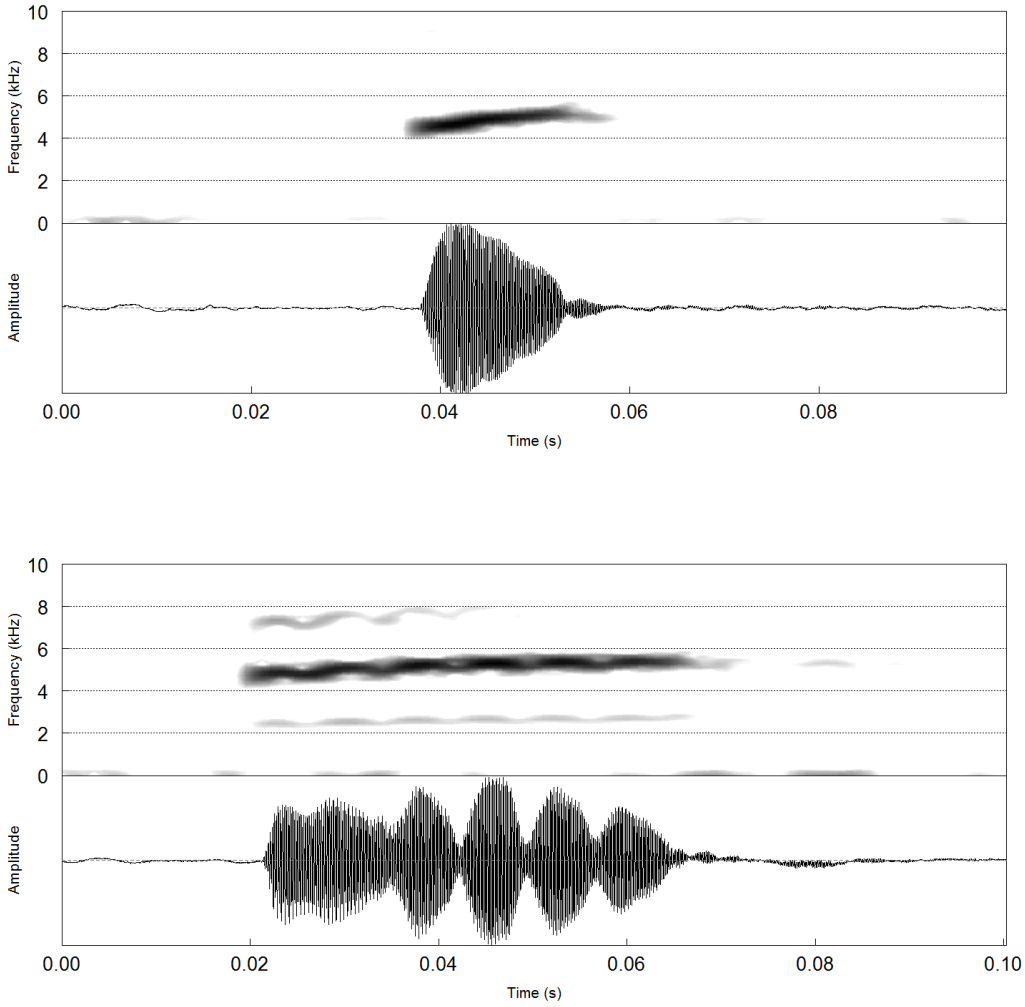
Outros padrões foram recuperados pelas análises multivariadas como distintos do de *A. hylaedactyla* (Figura 16). Um deles é totalmente divergente e foi gravado para populações do estado do Pará (municípios de Peixe-Boi e Belém): é um sinal muito curto, não pulsado, emitido a uma taxa de repetição muito alta, com frequência dominante muito alta e coincidente com o primeiro harmônico (Figura 17). Esse padrão é completamente distinto dos outros conhecidos para o clado (não foi incluído nas análises estatísticas), com diferenças marcantes no envelope temporal (ausência de modulações sinusoidais, i.e., pulsos), distribuição de energia nos harmônicos (frequência dominante = frequência fundamental), além de diferenças quantitativas notáveis. Com base nessas evidências, o nome *A.* aff. *hylaedactyla* (espécie nova) será aplicado daqui adiante como uma espécie candidata confirmada. Outro padrão foi gravado para uma população rondoniense (município de Vilhena). As diferenças estão restritas aos caracteres espectrais, mas grandes o suficiente para separá-la acusticamente de *A. hylaedactyla*. Daqui em diante, essa população será referida como *Adenomera* “Vilhena” e representa uma espécie candidata não confirmada com base em sua vocalização (Figura 17).

Figura 16 – Análise discriminante de componentes principais (DAPC) sobre variáveis acústicas para os morfótipos associados a *A. hylaedactyla*. Oito eixos da ACP e três eixos do DAPC foram retidos na análise. Abreviações: hylaed (*A. hylaedactyla*), coca (*A. coca*), Cerrado (*Adenomera* “Cerrado”) e Vilhena (*Adenomera* “Vilhena”).



Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 17 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de *A.* aff. *hylaedactyla* (Belém, PA) e *Adenomera* “Vilhena” (Vilhena, RO), respectivamente.



Fonte: Elaborada pelo autor

Além desses padrões, populações ao longo do Cerrado (GO, MG e MT) foram reconhecidas como distintas de *A. hylaedactyla* em caracteres acústicos quantitativos (Apêndices C e D; Figuras 16 e 18). Desse ponto em diante, as populações desse clado que ocorrem nesse bioma serão referidas como *Adenomera* "Cerrado" e também uma espécie candidata não confirmada com base em evidência acústica. *Adenomera coca* teve discriminação acústica total dos outros morfótipos de *A. hylaedactyla* com base em cantos analisados de um indivíduo da Bolívia (Figuras 16, 18).

Os resultados da MANCOVA indicaram que a temperatura afetou as variáveis acústicas (*Pillai trace* = 0,387; $F_{3,32}$ = 6,72; p = 0,001). Ainda assim, todos os grupos analisados (*A. hylaedactyla*, *A.* aff. *hylaedactyla*, *Adenomera* "Vilhena", *Adenomera* "Cerrado" e *A. coca*) diferiram significativamente (*Pillai trace* = 1,643; $F_{9,102}$ = 13,72; p < 0,0001) entre si nas variáveis acústicas independentemente dos efeitos da covariável temperatura. O resultado do modelo Random Forests foi congruente, classificando acertadamente todos os indivíduos dentro dos seus respectivos grupos acústicos, exceto *A. coca* e um indivíduo de *A. hylaedacyla*, que tiveram reclassificação dentro do grupo *Adenomera* "Cerrado" (OOB = 5,1%). Em análise morfométrica, dessa vez *Adenomera* aff. *hylaedactyla* (Amazônia Oriental) foi incluída, e houve separação parcial entre os grupos reconhecidos acusticamente (Tabelas 7 e 8; Figura 19; Apêndices E e F). O resultado do modelo Random Forests (OOB = 6,2%) classificou acertadamente todos os indivíduos de *A. hylaedacyla* e *A.* aff. *hylaedactyla* dentro dos seus respectivos grupos, enquanto o único indivíduo de *Adenomera* "Vilhena" foi reclassificado no grupo *A.* aff. *hylaedactyla*, e três indivíduos de *Adenomera* "Cerrado" reclassificados nos grupos *A. hylaedactyla* (N = 2) e *Adenomera* "Vilhena" (N = 1).

Tabela 7 – Variáveis morfométricas para três populações de *Adenomera hylaedactyla*, duas populações de *A.* aff. *hylaedactyla*, e uma população de *Adenomera* "Vilhena". Descritores estatísticos: Média±DP (mínimo-máximo). O tamanho da amostra entre parênteses. M e F (machos e fêmeas adultas).

Variáveis	***A. hylaedactyla***			***A.* aff. *hylaedactyla***		***Adenomera* "Vilhena"**	
	Manaus (AM)	**S.G. Cachoeira (AM)**	**Cantá (RR)**	**Belém (PA)**	**Peixe-Boi (PA)**	**Vilhena (RO)**	
(mm)	**M (8)**	**M (8)**	**M (4)**	**M (13)**	**M (6)**	**M (1)**	**F (1)**
CRC	23,7±0,8 (22,5-25,2)	25,3±0,7 (24,2-26,5)	22,9±0,4 (22,3-23,3)	21,0±0,5 (20,3-21,8)	20,6±0,5 (19,9-21,2)	19,78	23,77
CF	10,3±0,6 (9,0-10,9)	11,4±0,4 (10,8-12,1)	9,6±0,1 (9,5-9,8)	9,4±0,4 (8,5-10,1)	9,1±0,2 (8,8-9,3)	9,31	9,65
CT	10,6±0,4 (10,0-11,1)	11,7±0,4 (11,1-12,5)	10,0±0,1 (9,9-10,1)	9,9±0,3 (9,4-10,2)	9,5±0,4 (9,0-10,1)	9,24	10,13
CTA	5,9±0,3 (5,5-6,3)	6,3±0,2 (6,1-6,6)	5,3±0,1 (5,2-5,4)	5,6±0,2 (5,2-6,0)	5,3±0,4 (4,9-5,7)	5,4	5,7
CP	12,1±0,4 (11,4-12,6)	13,1±0,3 (12,9-13,6)	11,4±0,2 (11,3-11,6)	11,1±0,4 (10,2-11,6)	10,9±0,2 (10,6-11,4)	9,83	10,83
CAB	4,5±0,2 (4,2-4,7)	5,1±0,2 (4,8-5,5)	4,3±0,1 (4,2-4,4)	4,3±0,3 (3,7-4,8)	4,4±0,3 (4,1-4,8)	4,2	4,5
CM	5,3±0,2 (4,9-5,5)	5,5±0,3 (5,1-5,8)	4,9±0,2 (4,7-5,2)	4,6±0,2 (4,0-5,0)	4,4±0,3 (4,0-4,8)	4,2	4,8
CC	7,9±0,2 (7,5-8,1)	8,2±0,1 (8,0-8,3)	7,5±0,1 (7,4-7,6)	7,0±0,2 (6,6-7,1)	7,0±0,2 (6,7-7,3)	6,8	7,6
LC	8,3±0,2 (7,9-8,6)	8,5±0,2 (8,3-8,8)	7,9±0,1 (7,8-8,0)	7,4±0,3 (6,9-7,7)	7,1±0,2 (6,8-7,4)	7,3	8,2
DO	2,1±0,2 (1,7-2,4)	2,3±0,1 (2,1-2,5)	2,1±0,1 (2,0-2,3)	2,1±0,2 (1,7-2,3)	2,0±0,1 (1,7-2,1)	1,9	2,3
DT	1,3±0,1 (1,2-1,5)	1,3±0,1 (1,2-1,5)	1,3±0,1 (1,3-1,4)	1,1±0,1 (0,9-1,3)	1,1±0,1 (1,0-1,3)	1,0	1,5
DON	2,0±0,1 (2,0-2,1)	2,2±0,1 (2,0-2,3)	1,9±0,1 (1,8-1,9)	1,8±0,2 (1,5-2,0)	1,8±0,1 (1,6-1,9)	1,9	1,9
DEN	2,1±0,1 (2,0-2,2)	2,2±0,1 (2,1-2,4)	2,0±0,3 (1,7-2,2)	1,9±0,1 (1,7-2,1)	2,0±0,1 (1,9-2,1)	1,9	2,0

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 8 – Variáveis morfométricas para três populações de *Adenomera* “Cerrado”. Descritores estatísticos: Média±DP (mínimo-máximo). Vide Apêndice A para as localidades específicas para os espécimes do Araguaia (MT) e Cerrado (MG/GO). O tamanho da amostra entre parênteses. M = machos adultos.

Variáveis (mm)	***Adenomera* “Cerrado”**		
	Araguaia (MT)	**CAROLINA (MA)**	**CERRADO (MG/GO)**
	M (10)	**M (1)**	**M (14)**
CRC	22,5±0,8 (20,9-23,75)	22,3	22,1±1,1 (20,3-23,9)
CF	9,7±0,5 (8,9-10,4)	9,6	10,0±0,5 (9,0-10,8)
CT	10,1±0,4 (9,4-10,5)	10,5	10,3±0,6 (9,3-11,5)
CTA	5,8±0,2 (5,5-6,3)	5,6	5,7±0,3 (5,1-6,3)
CP	11,4±0,6 (10,2-12,2)	11,5	11,8±0,7 (10,7-13,2)
CAB	4,5±0,1 (4,2-4,7)	4,2	4,4±0,3 (4,0-5,0)
CM	4,9±0,1 (4,5-5,4)	5,6	4,9±0,3 (4,6-5,6)
CC	7,5±0,3 (6,8-7,8)	7,6	7,3±0,3 (6,9-7,9)
LC	7,8±0,1 (7,6-8,0)	7,8	7,7±0,3 (1,7-2,3)
DO	2,1±0,1 (1,9-2,3)	2,0	1,2±0,1 (1,7-2,3)
DT	1,2±0,1 (1,1-1,4)	1,4	1,2±0,1 (1,1-1,3)
DON	1,8±0,1 (1,6-2,1)	1,7	1,9±0,1 (1,6-2,1)
DEN	2,0±0,04 (1,9-2,0)	2,2	2,0±0,1 (1,7-2,2)

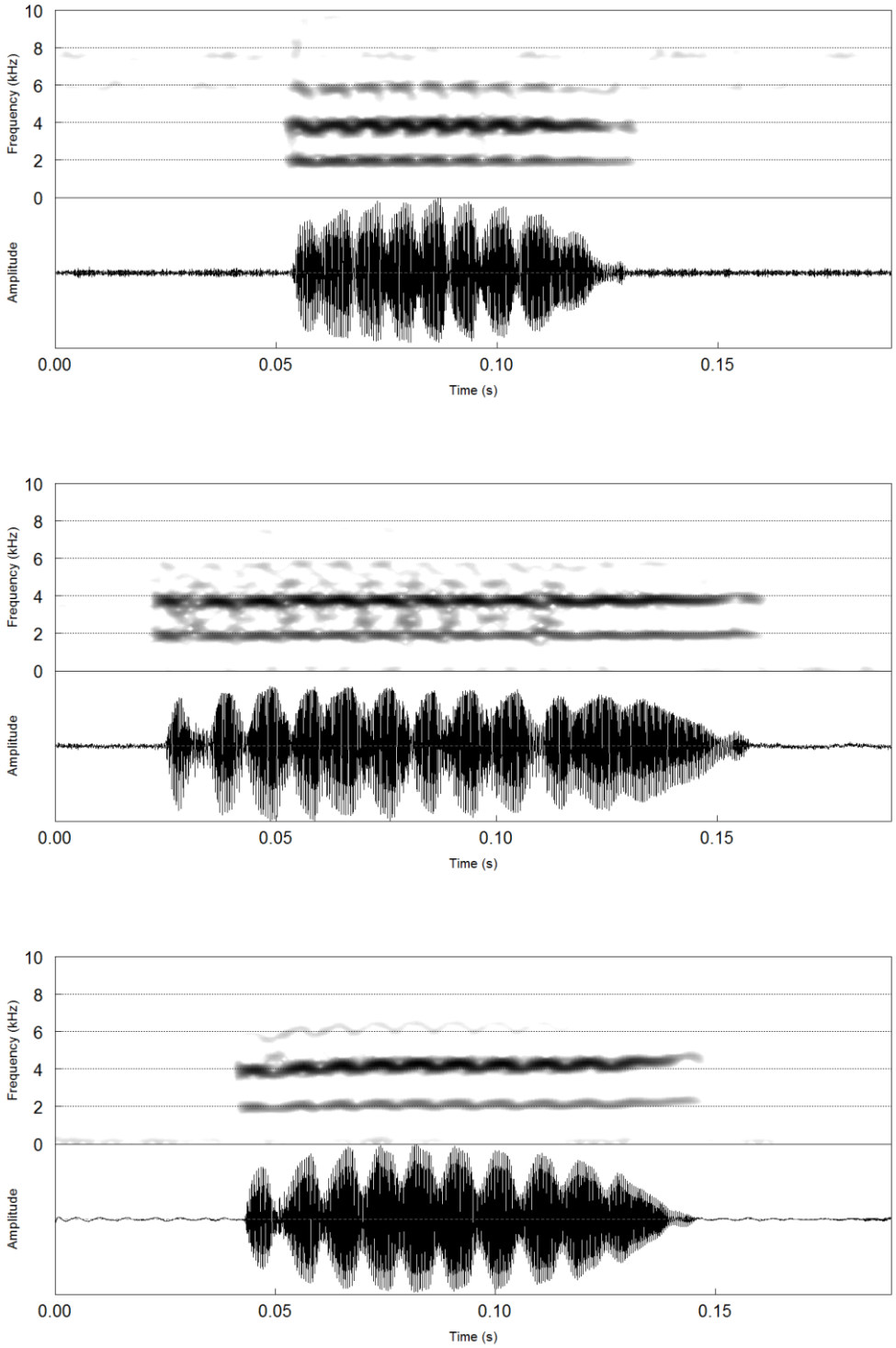
Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 9 – Variáveis morfométricas para quatro populações de *Adenomera diptyx*, e uma de *A.* cf. *diptyx*. Descritores estatísticos: Média±DP (mínimo-máximo). O tamanho da amostra entre parênteses. M = machos adultos.

Variáveis (mm)	***A. diptyx***				***A.* cf. *diptyx***
	São Vicente (MT)	**Barra do Garças (MT)**	**Cáceres (MT)**	**Ch. Guimarães (MT)**	**Carolina (MA)**
	M (4)	**M (2)**	**M (1)**	**M (1)**	**M (1)**
CRC	26,6±1,1 (19,8-22,2)	20,4±0,7 (19,9-20,9)	21,6	21,0	21,2
CF	9,6±0,5 (8,6-9,9)	8,8±0,1 (8,7-8,9)	10,1	8,6	9,2
CT	9,4±0,1 (8,9-10,3)	9,0±0,3 (8,8-9,2)	10,2	9,2	9,6
CTA	5,3±0,3 (4,9-5,7)	5,3±0,2 (5,4-5,4)	5,9	5,2	5,4
CP	10,4±0,3 (10,1-10,8)	10,1±0,4 (9,8-10,4)	11,7	10,4	10,6
CAB	4,3±0,3 (4,0-4,6)	3,9±0,0 (3,9-3,9)	4,5	3,7	4,1
CM	4,6±0,2 (4,4-4,9)	4,6±0,1 (4,5-4,6)	5,2	4,6	4,5
CC	7,1±0,4 (6,8-7,6)	7,1±0,1 (7,0-7,1)	7,6	7,4	7,5
LC	7,3±0,4 (6,9-7,8)	7,1±0,1 (7,0-7,2)	8,0	7,1	7,6
DO	2,1±0,2 (1,9-2,3)	1,9±0,0 (1,9-1,9)	2,2	1,9	2,1
DT	1,2±0,1 (1,1-1,3)	1,1±0,1 (1,0-1,1)	1,2	1,1	1,1
DON	1,8±0,2 (1,5-1,9)	1,8±0,1 (1,7-1,9)	1,9	1,9	1,7
DEN	1,9±0,1 (1,8-1,9)	1,9±0,1 (1,8-1,9)	2,1	1,9	1,9

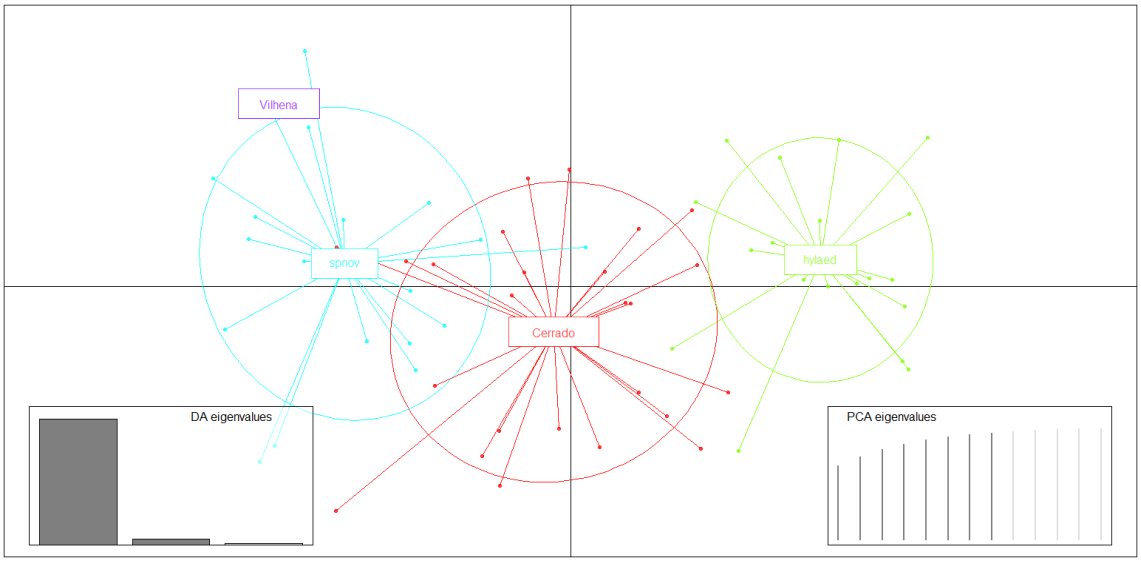
Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 18 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de *A. hylaedactyla* (Manaus, AM), *A. coca* (Bolívia) e *Adenomera* “Cerrado” (Uberlândia, MG), respectivamente.



Fonte: Elaborada pelo autor

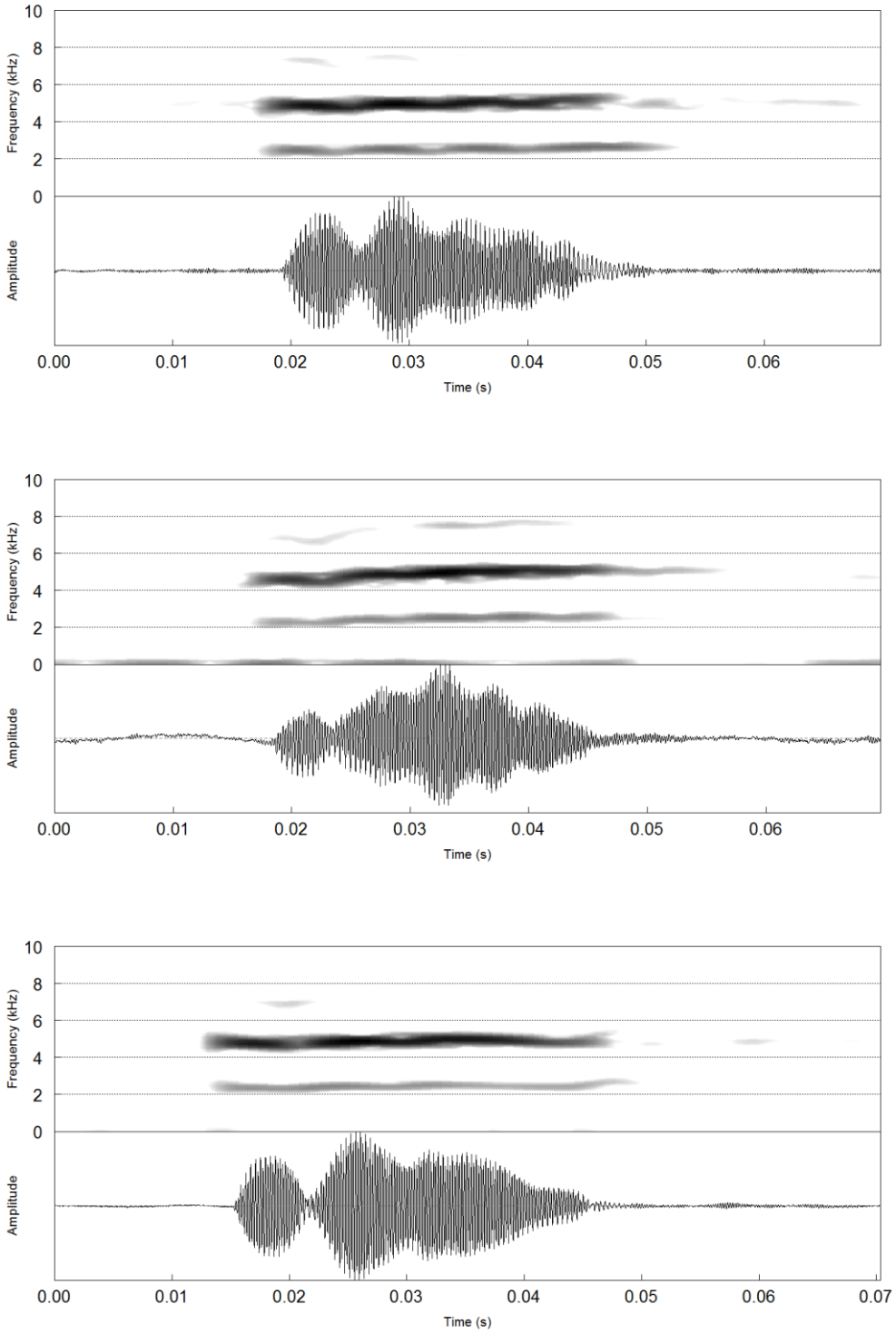
Figura 19 – Análise discriminante de componentes principais (DAPC) sobre variáveis morfométricas para os morfótipos associados a *A. hylaedactyla*. Oito eixos da ACP e três eixos do DAPC foram retidos na análise. Abreviações: hylaed (*A. hylaedactyla*), spnov (*A.* aff. *hylaedactyla*), Cerrado (*Adenomera* "Cerrado") e Vilhena (*Adenomera* "Vilhena").



Fonte: Elaborada pelo autor

Em *A. diptyx*, as populações analisadas apresentaram certa variação em parâmetros temporais e espectrais do canto (Tabelas 5 e 6; Figura 20). Contudo, o tamanho amostral para indivíduos para cada população foi limitado para maiores inferências. Da mesma forma, poucos espécimes para as populações gravadas foram acessados. Assim, as populações analisadas foram atribuídas à espécie nominal *A. diptyx*. Duas populações do nordeste do Brasil (Carolina, MA; e Lagoa dos Gatos, PE) foram exceção, pois embora atribuídas a *A. diptyx* morfológica e/ou acusticamente, a distribuição para o nordeste do país está completamente fora da conhecida para espécie (vide ponto 35 da Figura 1). Por essa razão, essas populações foram nomeadas preliminarmente *A.* cf. *diptyx*.

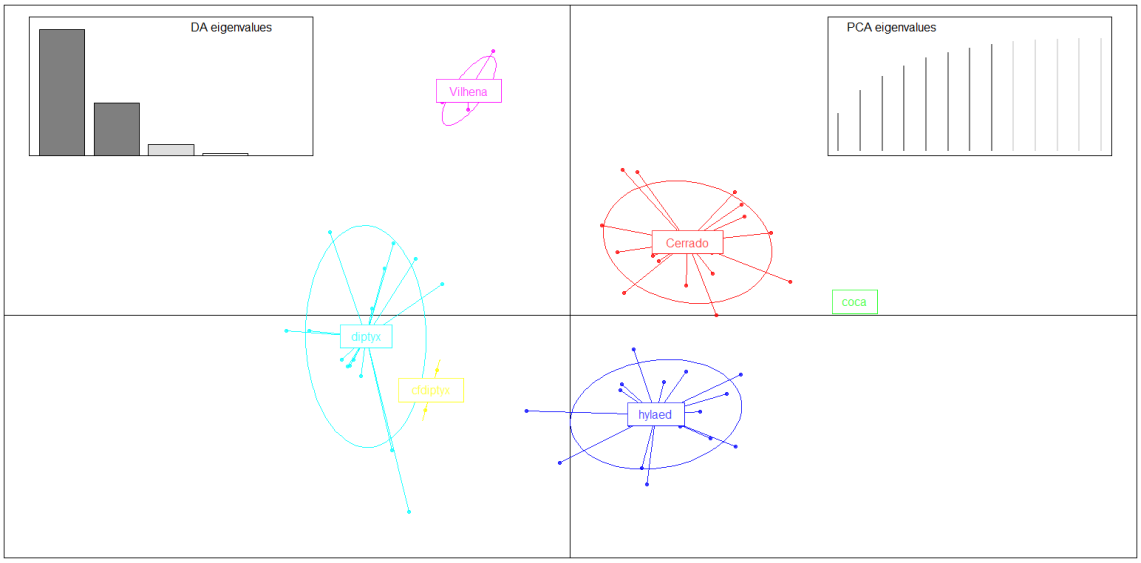
Figura 20 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de *A. diptyx* do estado do Mato Grosso (Barra do Garças, Cáceres e São Vicente, respectivamente) e *A.* cf. *diptyx* (Carolina, MA), respectivamente.



Fonte: Elaborada pelo autor

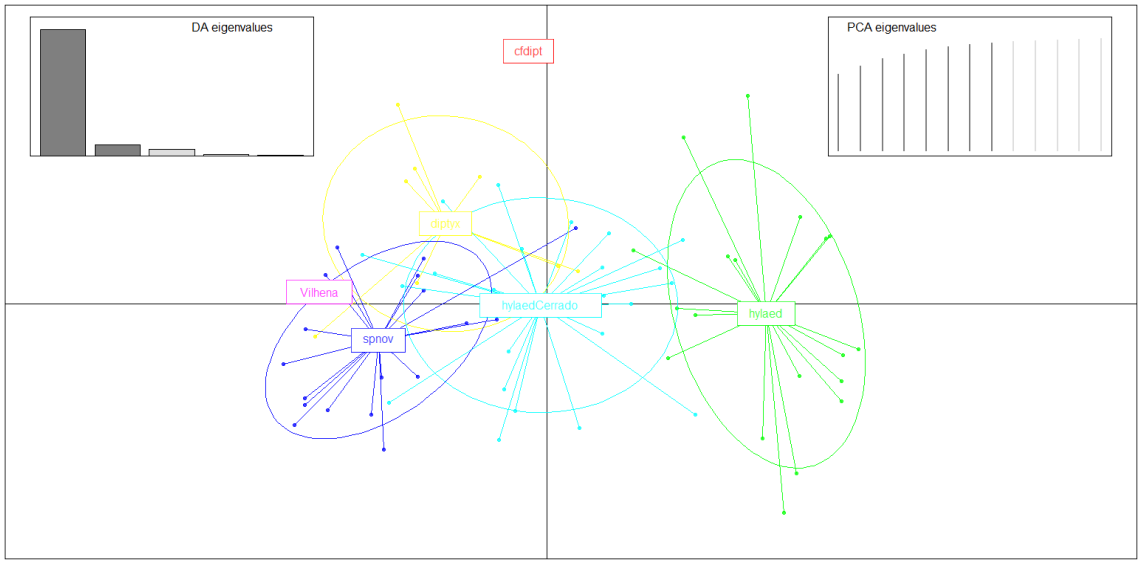
Apesar da separação entre as espécies do clado *A. hylaedactyla* (i.e., *A. hylaedactyla* e *A. diptyx*) ser possível considerando-se morfologia, padrões de coloração e vocalização, nem sempre a discriminação é fácil através dessas linhas de evidência quando toda a variação intraespecífica é considerada. Os principais resultados estatísticos da DAPC com base em dados acústicos foram que: i) todos os grupos acústicos previamente reconhecidos dentro do nome *A. hylaedactyla* foram recuperados como distintos entre si, assim como discriminados de *A. coca* e das populações atribuídas a *A. diptyx* e *A.* cf. *diptyx*; e ii) *A.* cf. *diptyx* não pôde ser discriminado de *A. diptyx* (Figura 21). O resultado das classificações do modelo Random Forests (OOB = 5,4%) foi concordante, em que os grupos previamente reconhecidos dentro do nome *A. hylaedactyla* foram recuperados como distintos entre si (100% acerto nas reclassificações), com a exceção de *A. coca* (reclassificada no grupo *Adenomera* "Cerrado"), e *A.* cf. *diptyx*, reclassificada em *A. diptyx*. A partir de dados morfométricos (Tabelas 7-9), a DAPC indicou separação parcial entre *A. hylaedactyla* e *Adenomera* "Cerrado", e separação total entre *A. hylaedactyla* e os outros dois morfótipos associados a esse nome (*Adenomera* "Vilhena" e *Adenomera* aff. *hylaedactyla*). O único espécime analisado de *A.* cf. *diptyx* foi discriminado de todos os outros grupos, incluindo *A. diptyx*, enquanto não houve separação clara entre *A. diptyx*, *Adenomera* aff. *hylaedactyla*, *Adenomera* "Cerrado" e *Adenomera* "Vilhena" (Figura 22). O resultado das classificações do modelo Random Forests (OOB = 9,5%) foi divergente, em que os grupos previamente reconhecidos dentro do nome *A. hylaedactyla* foram recuperados como distintos entre si (100% acerto nas reclassificações), com a exceção de *Adenomera* "Vilhena", reclassificada em *A. diptyx*. Por sua vez, *A. diptyx* foi reclassificada fora de seu grupo original (dentro de *Adenomera* "Cerrado") três vezes (37,5% da amostra).

Figura 21 – Análise discriminante de componentes principais (DAPC) sobre variáveis acústicas para os morfótipos associados a *A. hylaedactyla* e *A. diptyx*. Oito eixos da ACP e três eixos do DAPC foram retidos na análise. Abreviações: hylaed (*A. hylaedactyla*), coca (*A. coca*), Cerrado (*Adenomera* "Cerrado"), Vilhena (*Adenomera* "Vilhena"), diptyx (*A. diptyx*) e cfdiptyx (*A.* cf. *diptyx*).



Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 22 – Análise discriminante de componentes principais (DAPC) sobre variáveis morfométricas para os morfótipos associados a *A. hylaedactyla* e *A. diptyx*. Oito eixos da ACP e três eixos do DAPC foram retidos na análise. Abreviações: hylaed (*A. hylaedactyla*), spnov (*A.* aff. *hylaedactyla*), hylaedCerrado (*Adenomera* "Cerrado"), Vilhena (*Adenomera* "Vilhena"), diptyx (*A. diptyx*) e cfdiptyx (*A.* cf. *diptyx*).

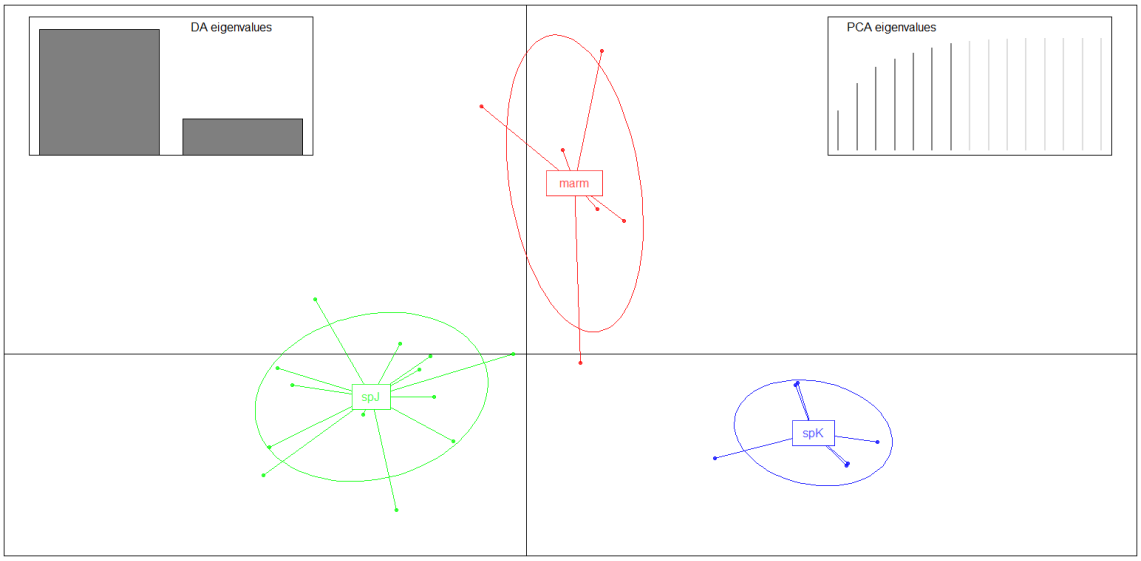


Fonte: Elaborada pelo autor

Para o clado *A. marmorata*, as análises se restringiram aos dados acústicos. Para os subclado do sudeste do país, a espécie nominal (*A. marmorata*) e as duas espécies mais proximamente relacionadas a ela (*Adenomera* sp. J. e *Adenomera* sp. K) tiveram discriminação parcial em alguns parâmetros acústicos (Figura 23): no primeiro eixo da DAPC, a duração do canto e frequências fundamental e dominante foram as variáveis que mais contribuíram para separação dos grupos, enquanto que no eixo dois, a menor taxa de repetição de cantos e modulação linear de frequência mais acentuada separou *A. marmorata* de ambas as espécies candidatas (Tabelas 3 e 4; Apêndices C e D). Em contraste, a tabela de classificação obtida através do método Random Forests (OOB = 12,0%) classificou a metade dos indivíduos de *A. marmorata* dentro de "sp J", enquanto ambas as espécies candidatas ("sp. J" e "sp. K") foram recuperadas com 100% de acerto. A espécie candidata *Adenomera* sp. A não foi incluída, pois a estrutura espectral da vocalização dessa população (Macaé, RJ) é distinta qualitativamente das outras espécies desse subclado, assim como os padrões

acústicos de *A. ajurauna* e *Adenomera* sp. S (vide seção 4.2 desse capítulo; Tabelas 3 e 4; Figuras 9 e 10).

Figura 23 – Análise discriminante de componentes principais (DAPC) sobre variáveis acústicas para as espécies do clado *A. marmorata*. Oito eixos da ACP e três eixos do DAPC foram retidos na análise. Abreviações: marm (*A. marmorata*), spJ (*Adenomera* sp. J) e spK (*Adenomera* sp. K).

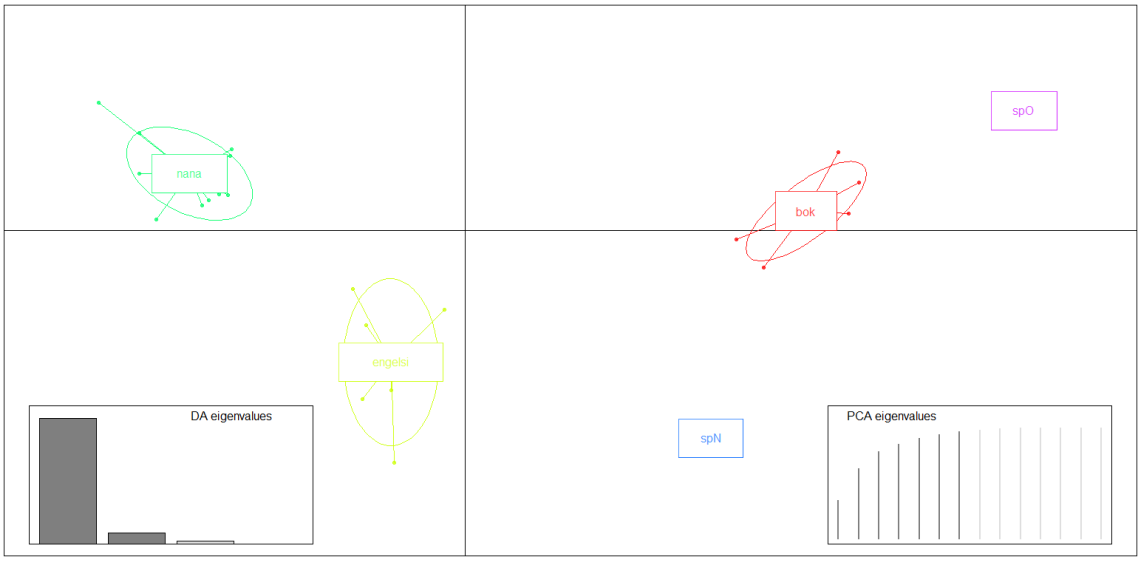


Fonte: Elaborada pelo autor

Para as linhagens do subclado do sul do país (*A. bokermanni*, *A. engelsi*, *A. nana*, *Adenomera* sp. N e *Adenomera* sp. O), houve separação total nos dois primeiros eixos da DAPC. A taxa de repetição dos cantos e frequências fundamental e dominante discrimaram *A. nana* e *A. engelsi* das outras três, além de ter contribuído na separação entre *A. bokermanni*, “sp. N” e “sp. O”. A duração do canto e durações relativas do ataque, platô e queda, e pico relativo de amplitude também tiveram uma grande contribuição na separação entre grupos, com atenção especial para a separação acústica entre as espécies *A. nana* e *A. engelsi*; e entre *A. bokermanni*, e as espécies candidatas “sp. N” e “sp. O” (Tabelas 3 e 4; Figura 24; Apêndices C e D). Em contraste, a classificação do modelo Random Forests (OOB = 12,9%) reclassificou as espécies candidatas “sp. N” e “sp. O” dentro de *A. bokermanni*, e até mesmo um indivíduo de *A. engelsi* (14,3% da amostra) teve sua classificação recuperada dentro de *A. nana*, ainda que suas vocalizações tenham diferenças notáveis em parâmetros espectrais (Tabelas 3 e 4). As espécies *A. araucaria* e *Adenomera*

sp. R não foram incluídas, pois os parâmetros temporais e/ou espectrais da vocalização dessas linhagens são distintos qualitativamente daqueles das espécies analisadas acima (vide seção 4.2 desse capítulo; Tabelas 3-6).

Figura 24 – Análise discriminante de componentes principais (DAPC) sobre variáveis acústicas para espécies do clado *A. marmorata*. Oito eixos da ACP e três eixos do DAPC foram retidos na análise. Abreviações: engelsi (*A. engelsi*), nana (*A. nana*), bok (*A. bokermanni*), spN (*Adenomera* sp. N) e spO (*Adenomera* sp. O).



Fonte: Elaborada pelo autor

4.4 Revisão taxonômica do par de espécies *A. andreae*—*A. hylaedactyla*

O ponto exato da localidade tipo de *A. andreae* (MÜLLER, 1923) está localizada na antiga estação ferroviária de Bragança, atualmente um comércio local no perímetro urbano do município de Peixe-Boi, PA (Figura 25). Embora o entorno da localidade tipo e do município tenham sido amostrados exaustivamente, a população de *A. andreae* mais próxima ao ponto exato de coleta da série tipo da espécie foi encontrada em um fragmento florestal localizado no município vizinho, Nova Timboteua, cerca de 18 km a sudoeste da localidade tipo. Uma série de *Adenomera andreae* (Figura 26) foi gravada e coletada nesse ponto. Dados acústicos e morfométricos para a espécie (arredores da localidade tipo e outras populações) estão nas Tabelas 5, 6 e 10. Quanto à série tipo de *A. andreae* (atualmente, um neótipo e três parátipos; HEYER, 1973), acessada através de fotografias em vista dorsal (Figura 27), é possível que duas espécies diferentes da região façam parte da série (*A. andreae* e *A.* aff. *hylaedactyla*), com base na linha vertebral completa de um dos espécimes (ZSM 145/11/4), estado de caráter presente em algumas espécies de *Adenomera*, mas não observada para *A. andreae*. Um dos quatro espécimes da Figura 27 (ZSM 145/11/1) é o neótipo designado por Heyer (1973), mas a correspondência entre os números de tombo de dois dos parátipos e as fotografias não foi obtida. De qualquer forma, ambos possuem o morfótipo histórico associado a *A. andreae* (HEYER, 1973; ANGULO et al.; 2003).

Tabela 10 – Variáveis morfométricas para quatro populações de *Adenomera andreae*. Espécimes do Equador são provenientes do Parque Nacional Yasuní e de diferentes localidades na província de Orellana. Para esses espécimes, apenas o CRC foi aferido. Descritores estatísticos: Média±DP (mínimo-máximo). O tamanho da amostra entre parênteses. M e F (machos e fêmeas adultas).

Variáveis	***Adenomera andreae***						
	Nova Timboteua (PA)	**Belém (PA)**		**Manaus (AM)**		**Equador**	
	M (7)	**M (1)**	**F (1)**	**M (14)**	**F (6)**	**M (9)**	**F (6)**
CRC	20.2±0,7 (19,3-21,4)	22,1	21,7	20,9±0,8 (19,9-23,0)	22,5±1,7 (19,5-24,3)	22,4±0,6 (21,9-23,4)	24,0±0,6 (23,4-24,9)
CF	9,7±0,3 (9,3-10,3)	9,6	9,6	9,6±0,5 (8,6-10,7)	10,2±0,4 (9,6-10,8)	-	-
CT	9,8±0,3 (9,56-10,22)	10,1	10,2	9,8±0,4 (9,3-10,7)	10,4±0,6 (9,8-11,3)	-	-
CTA	5,5±0,2 (5,3-6,0)	5,6	5,2	5,4±0,3 (5,0-6,0)	5,8±0,3 (5,3-6,2)	-	-
CP	10,5±0,2 (10,1-10,7)	10,4	10,7	10,2±0,5 (9,4-11,2)	10,8±0,7 (10,1-11,8)	-	-
CAB	4,1±0,1 (3,9-4,2)	4,1	4,6	4,4±0,2 (4,1-4,6)	4,7±0,2 (4,5-5,0)	-	-
CM	4,4±0,2 (4,1-4,7)	4,7	4,0	4,6±0,3 (4,0-5,1)	4,5±0,3 (4,2-5,0)	-	-
CC	7,1±0,1 (7,0-7,2)	7,7	7,5	7,3±0,3 (6,9-7,8)	7,6±0,3 (7,1-8,0)	-	-
LC	7,7±0,2 (7,4-7,9)	8,2	8,2	8,0±0,3 (7,4-8,5)	8,3±0,4 (7,9-9,0)	-	-
DO	2,1±0,1 (2,0-2,3)	1,9	2,1	1,9±0,2 (1,6-2,2)	2,2±0,2 (2,0-2,5)	-	-
DT	1,3±0,1 (1,2-1,4)	1,4	1,4	1,2±0,1 (1,0-1,3)	1,3±0,2 (1,1-1,6)	-	-
DON	1,8±0,1 (1,5-1,9)	2,0	1,9	1,8±0,2 (1,5-2,0)	1,9±0,2 (1,6-2,0)	-	-
DEN	2,1±0,1 (1,9-2,1)	2,2	2,1	2,0±0,1 (1,9-2,2)	2/,1±0,1 (1,9-2,3)	-	-

Fonte: Elaborada pelo autor

Figura 25 – Fotografias da localidade tipo exata de *Adenomera andreae*. Esquerda: Estação ferroviária no município de Peixe-Boi (Pará) da Estrada de Ferro de Bragança; Direita: a mesma localidade no ano de 2013. Coordenadas geográficas: 1°11'36" S; 47°18'58" O.

Fonte: fotografias enviadas pelo Dr. W. R. Heyer (esquerda) e elaborada pelo autor (direita)

Figura 26 – Macho adulto de *Adenomera andreae* dos arredores da localidade tipo (Nova Timboteua, Pará, Brasil). Espécime AAG-UFU 2789 (CRC = 20,3 mm).

Fonte: elaborada pelo autor

Figura 27 – Série tipo (neótipo e três parátipos) de *Adenomera andreae* (MÜLLER, 1923). Localidade tipo: Peixe-Boi, Pará, Brasil. Da esquerda para direita (fileira superior): neótipo (ZSM 145/11/4) e o parátipo com padrão distinto (ZSM 145/11/1); as fotografias da fileira inferior são dos espécimes ZSM 145/11/2-3, mas não há correspondência certa entre as fotos e os espécimes.

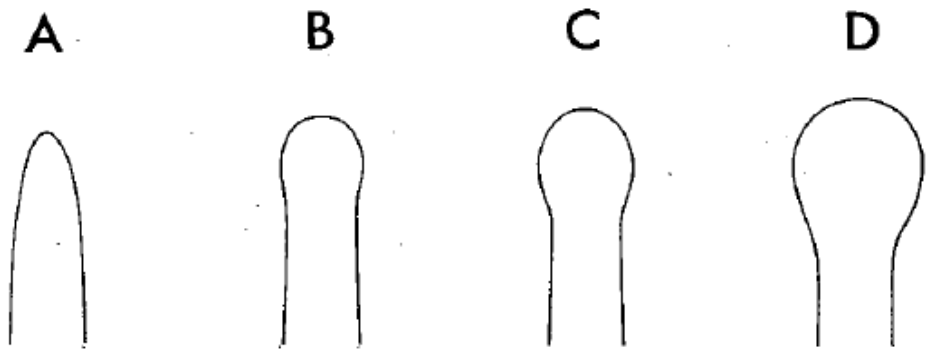
Fonte: cedida pela Dra. Ariadne Angulo.

Em relação a *A. hylaedactyla* (COPE, 1868), embora uma gravação do Peru (localidade tipo da espécie) tenha sido incluída nas análises, a localidade tipo para essa espécie é inexata. A região provável onde o holótipo foi coletado é compreendida pela drenagem de dois rios da Amazônia peruana/equatoriana (rios Napo e alto Marañón; MALNATE, 1971). Além de ser uma região muito extensa, o registro para morfótipos associados a *A. hylaedactyla* (sensu HEYER, 1973; ANGULO et al., 2003) na maior coleção de anuros do Equador é muito raro (N = 1 espécime dentre os espécimes analisados para o gênero; Apêndice A), tampouco sendo possível a associação do morfótipo ao padrão acústico. Um problema adicional está associado ao fato de que o holótipo de *A. hylaedactyla*, acessível na coleção da Academia de Ciências Naturais da Filadélfia (ANSP 2240; Figura 28), aparentemente não compartilha o mesmo morfótipo historicamente ligado a essa espécie nominal por apresentar diferentes estados de caráter para as pontas dos artelhos (vide Figura 29 para os estados de caráter). Esse espécime está em condições ruins de preservação e talvez apresente uma característica morfológica particular de *A. andreae*, a outra espécie amplamente distribuída no domínio amazônico: a porção distal dos artelhos no holótipo é expandida (Figura 28), como previamente reportado por Cope (1868), Heyer (1973) e Angulo et al. (2003). Contudo, espécimes atribuídos a *A. hylaedactyla* podem apresentar expansões arredondadas das pontas dos artelhos (estados B e C; Figura 29), estado descrito para o holótipo de *A. hylaedactyla* por Heyer (1973), enquanto *A. andreae* apresenta expansões dos artelhos achatadas dorsoventralmente, formando discos (estado D; Figura 27).

Figura 28 – Holótipo (ANSP 2240) de *Adenomera hylaedactyla* (COPE, 1868). Localidade tipo: Rio Napo ou alto rio Marañón, Peru (MALNATE, 1971).

Fonte: cedida pela Dra. Ariadne Angulo.

Figura 29 – Estados de caráter para a ponta dos artelhos em *Adenomera* (sensu HEYER, 1973): A (sem expansões laterais); B (ligeiramente expandida); C (expandida; formato da ponta do artelho arredondado); D (expandida e achata dorsoventralmente, formando discos).



Fonte: extraída de Heyer (1973), p. 3.

Soma-se a isso o fato de que algum nível de discriminação morfométrica e padrões acústicos distintos foram encontrados para as populações atribuídas ao morfótipo *A. hylaeactyla* oriundas da Amazônia e Cerrado. Por isso, as comparações foram restritas ao morfótipo e padrão acústico compartilhado por populações da Amazônia brasileira (AM e RR), peruana e equatoriana, e assim facilitar operacionalmente as comparações e decisões taxonômicas.

As espécies *A. andreae* e *A. hylaedactyla* da Amazônia foram facilmente discriminadas em morfologia, morfometria e vocalizações. O conjunto das características morfológicas de formato da cabeça (tende a ser arredondada em *A.* andreae, sub-elípitca em *A. hylaedactyla*; Figuras 27, 30), estado de caráter para o formato da ponta dos artelhos (estado D em *A. andreae*, estados B-C em *A. hylaedactyla*; Figura 29) e tamanho (Tabelas 7 e 10) são úteis na discriminação dessas espécies. Padrões acústicos distintos também foram identificados para cada uma das espécies (Tabelas 5 e 6; Figuras 6, 14): variáveis temporais (taxa de repetição de cantos) e espectrais (frequências fundamental e dominante, e modulação linear de frequência). Há também algumas características ecológicas que são úteis em campo: *A. andreae* é uma espécie florestal, enquanto *A. hylaedactyla* ocupa áreas abertas, incluindo áreas com alto grau de antropização. Essa espécie é muito comumente encontrada em atividade de vocalização na borda de ambientes florestais, e vez ou outra dentro da floresta, mas *A. andreae* é estritamente florestal.

Figura 30 – Macho adulto de *Adenomera hylaedactyla* do alto Rio Negro (São Gabriel da Cachoeira, Amazonas, Brasil). Espécime AAG-UFU 3861 (CRC = 26,5 mm).

Fonte: elaborada pelo autor

A despeito da separação fenotípica entre essas espécies, é essencial que alguns nomes que já foram utilizados para algumas populações hoje sob *A. hylaedactyla* (sinonimizações por HEYER, 1973) sejam levados em conta para uma abordagem taxonômica mais compreensiva desse par de espécies. *Leptodactylus hololius* (BOULENGER, 1918) foi descrito da mesma região que compreende a localidade tipo de *A. hylaedactyla* (Pebas, Rio Marañon, Peru), e parece compartilhar os estados de caráter da ponta dos artelhos (estados B-C) com o morfótipo de *A. hylaedactyla* descrito acima (Figura 31), assim como as espécies de *Adenomera* descritas por Melin (1941): *L. rugosus* (= *L. melini*; LUTZ; KLOSS, 1952), foi descrito da cercania de Manaus (AM) e *L. poeppigi* (Peru). Com base nessa evidência, esses sinônimos juniores de *A. hylaedactyla* foram considerados nesse estudo como coespecíficos a *A. hylaedactyla*, seguindo a proposição em Heyer (1973).

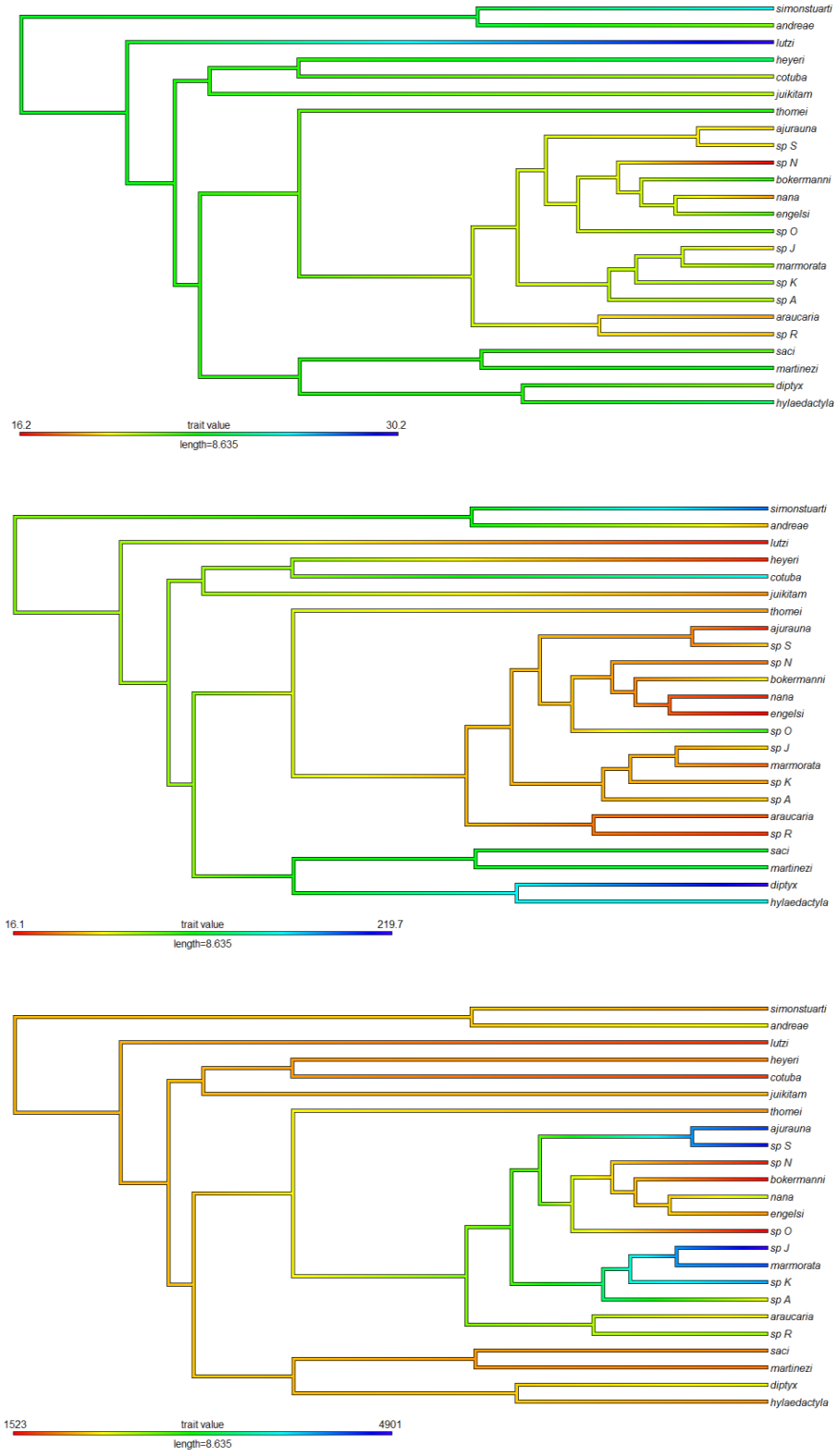
Figura 31 – Holótipo de *Leptodactylus hololius* (BOULENGER, 1918). Localidade tipo: Pebas, rio Marañón, Peru.

Fonte: fotocópia cedida pelo Dr. W. R. Heyer.

4.5 Padrões macroevolutivos dos sinais acústicos em *Adenomera*

Num contexto multivariado, foi detectado sinal filogenético para o conjunto de variáveis acústicas quantitativas com alta significância (K_{mult} = 0,75; p = 0,002). Na análise de sinal filogenético por variável, o tamanho corporal (CRC) e quatro das sete variáveis acústicas quantitativas tiveram sinal filogenético significativo ($p < 0,05$), sendo que três delas tiveram resultados congruentes entre os dois métodos utilizados (“K” e “lambda”) (vide Tabela 11 para uma síntese dos resultados das análises). Nas análises de correlação (PGLS) entre variáveis espectrais e tamanho, apenas a frequência dominante se correlacionou negativa e significativamente com o CRC ($F_{1,22}$ = 2,984; p = 0,01) (vide Tabela 12 para uma síntese dos resultados estatísticos).

Figura 32 – Mapeamentos dos três caracteres contínuos com os maiores valores de sinal filogenético (vide Tabela 7) na filogenia adaptada de *Adenomera*. De cima para baixo: CRC (mm), cantos por minuto e frequência fundamental (Hz).



Fonte: elaborada pelo autor

Tabela 11 – Estatística descritiva das análises de sinal filogenético por variável. Variáveis: comprimento rostro-cloacal (CRC); duração do canto (DC); cantos por minuto (CM); pico relativo de amplitude do canto (PA); razão energética entre os dois primeiros harmônicos (H1/H2); modulação linear de frequência (MLF); frequência fundamental (FF); frequência dominante (FD). Descritores estatísticos: K (parâmetro estatístico K de Blomberg); λ (parâmetro estatístico lambda de Pagel); logL (log-verossimilhança); p (valor de p).

VARIÁVEIS	**PARÂMETROS**				
	K de Blomberg		**Lambda de Pagel**		
	K	**p**	**λ**	**logL**	**p**
CRC	1,07	0,002	0,80	-56,0	0,017
DC	0,30	0,922	$7{,}33\times10^{-5}$	38,9	1,000
CM	1,02	0,010	1,05	-125,7	0,001
PA	0,57	0,063	0,43	-104,2	0,275
H1/H2	0,58	0,179	0,21	-149,2	0,678
MLF	0,78	0,010	1,07	-162,5	0,068
FF	0,83	0,018	1,10	-198,8	0,019
FD	0,67	0,046	0,34	-198,8	0,609

Fonte: Elaborada pelo autor

Tabela 12 – Sumário dos resultados das análises de correlação filogenética (PGLS), entre o tamanho corporal e variáveis acústicas. Variáveis: comprimento rostro-cloacal (CRC); duração do canto (DC); cantos por minuto (CM); pico relativo de amplitude do canto (PA); frequência fundamental (FF); frequência dominante (FD). Descritores estatísticos: F (valor de F com seus respectivos G.L.); p (valor de p); EP (erro padrão residual sobre os 22 G.L.); R^2_m (R^2 múltiplo); R^2_{aj} (R^2 ajustado).

VARIÁVEIS	**PARÂMETROS ESTATÍSTICOS**				
	$F_{1,22}$	**p**	**EP**	R^2_m	R^2_{aj}
CRC x FD	8,436	0,01	0,60	0,28	0,24
CRC x FF	2,984	0,10	0,66	0,12	0,08
CRC x H1-H2	1,499	0,23	0,68	0,06	0,02

Fonte: Elaborada pelo autor

As análises de associação entre variáveis acústicas e CRC e habitats de vocalização (florestal vs. área aberta) levando em conta a dependência filogenética entre as espécies, foram significativas apenas para a taxa de repetição de cantos (cantos por minuto); em área aberta, a taxa de emissão foi significativamente mais alta (F = 10,261; p = 0,03). Esse caráter apresentou uma tendência ao aumento nos clados *A. hylaedactyla* e *A. martinezi*, particularmente alta no primeiro clado (Figura 32). Os resultados para as ANOVA filogenéticas estão disponíveis na Tabela 13.

Para as mesmas variáveis analisadas acima, modelos evolutivos (BM, O-U1 e O-U2) foram confrontados para explorar os processos evolutivos associados aos caracteres na filogenia, assumindo um pico de ótimo para cada um dos habitats de vocalização em um deles (O-U2). Os resultados indicaram que os modelos "O-U1" e "BM" se ajustam relativamente melhor à evolução dos seis caracteres testados; o modelo "O-U2" não teve bom desempenho relativo para nenhuma variável (Tabela 14). Houve uma tendência de aumento na taxa de repetição dos cantos nos dois clados de área aberta (*A. hylaedactyla*+*A. martinezi*). As exceções ao padrão de menor taxa de repetição de cantos em espécies florestais são *A. cotuba* e *A. simonstuarti*, cujos padrões de emissão dos sinais de anúncio são particulares no gênero, uma vez que ambas as espécies emitem cantos em séries bem definidas, o que contribui para uma alta taxa de repetição de cantos nas quantificações.

Tabela 13 – Sumário dos resultados das ANOVA filogenéticas considerando-se variáveis acústicas, tamanho corporal, e as classificações de habitats de vocalização (florestal vs. área aberta). Variáveis: comprimento rostro-cloacal (CRC); duração do canto (DC); cantos por minuto (CM); pico relativo de amplitude do canto (PA); frequência fundamental (FF); frequência dominante (FD). Descritores estatísticos: F (valor de F); p (valor do p corrigido).

VARIÁVEIS	**PARÂMETROS ESTATÍSTICOS**	
	F	**p**
CRC	0,667	0,55
DC	0,660	0,52
CM	10,261	0,03
PA	0,466	0,64
FF	0,369	0,63
FD	0,181	0,77

Fonte: Elaborada pelo autor

Tabela 14 – Resultado dos ajustes aos modelos evolutivos para tamanho corporal e variáveis acústicas; caracteres associadas aos habitats de vocalização no modelo O-U2. Modelos evolutivos: BM (movimento Browniano); O-U1 (Ornstein-Uhlenbeck; 1 pico de ótimo); O-U2 (Ornstein-Uhlenbeck; 2 picos de ótimo). Variáveis: comprimento rostro-cloacal (CRC); duração do canto (DC); cantos por minuto (CM); pico relativo de amplitude do canto (PA); frequência fundamental (FF); frequência dominante (FD). Descritores estatísticos: α (valor de alfa); σ^2 (valor de sigma²); lnL (estimador de máxima verossimilhança); AIC (critério de Akaike); AICc (critério de Akaike corrigido); χ^2 (teste qui-quadrado); p (valor de p).

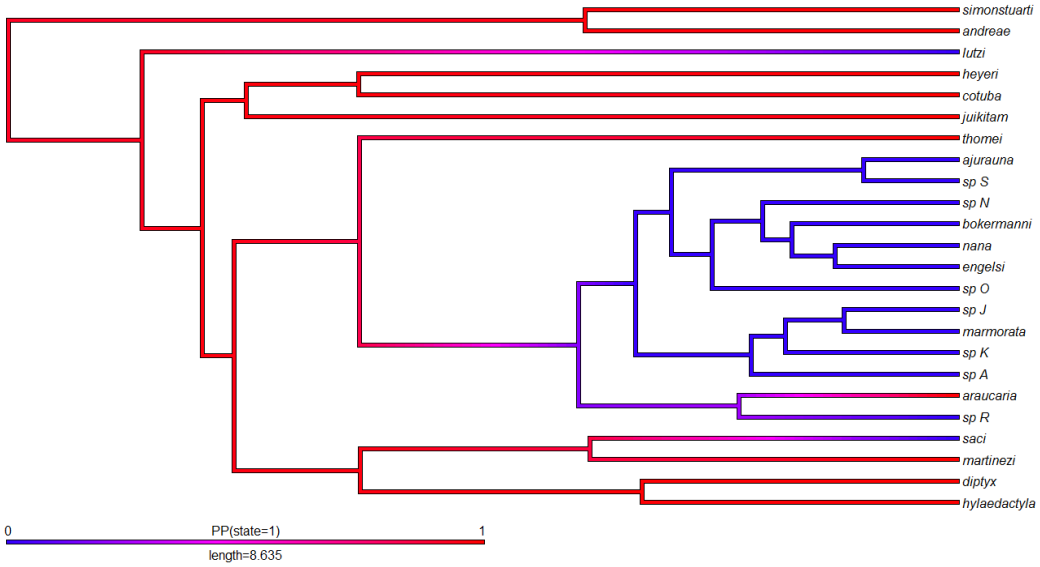
	MODELOS EVOLUTIVOS														**χ^2**
	BM				**O-U1**					**O-U2**					**BM x O-U1**
	σ^2	**lnL**	**AIC**	**AICc**	**α**	**σ^2**	**lnL**	**AIC**	**AICc**	**α**	**σ^2**	**logL**	**AIC**	**AICc**	**p**
CRC	0,002	16,60	-29,20	-28,63	0,09	0,003	17,72	-29,44	-28,24	1,94	0,06	17,78	-25,56	-22,23	0,14
DC	0,06	-25,30	54,19	55,16	2,72	1,46	-18,29	42,57	43,77	17,26	18,73	-26,71	63,43	66,77	0,0002
CM	0,06	-25,69	55,39	55,96	0,07	0,10	-24,98	55,96	57,16	198,37	103,51	-17,93	45,86	49,20	0,23
PA	0,10	-32,49	68,99	69,56	0,17	0,24	-28,84	63,70	64,90	3,20	4,43	-28,80	67,59	70,92	0,007
FF	0,01	-8,39	20,79	21,36	0,14	0,03	-6,09	18,19	19,39	2,61	0,56	-5,86	21,72	25,05	0,03
FD	0,01	-4,09	12,17	12,74	0,09	0,02	-3,36	12,72	13,92	1,98	0,37	-3,46	16,92	20,25	0,23

Fonte: Elaborada pelo autor

Comparando os dois modelos evolutivos que mais se ajustaram às mudanças evolutivas das variáveis contínuas, BM e O-U1 diferiram significativamente para três das seis variáveis testadas: duração do canto, pico relativo de amplitude do canto e frequência fundamental (Tabela 14). Nos três casos, o método O-U1 apresentou o melhor ajuste à evolução desses caracteres na filogenia. Para o restante das variáveis (CRC, cantos por minuto e frequência dominante), os modelos tiveram estimadores de desempenho semelhantes para ambos os modelos, e se assumiu que o modelo com pressupostos mais simples (BM) se ajustou melhor às tendências evolutivas desses caracteres.

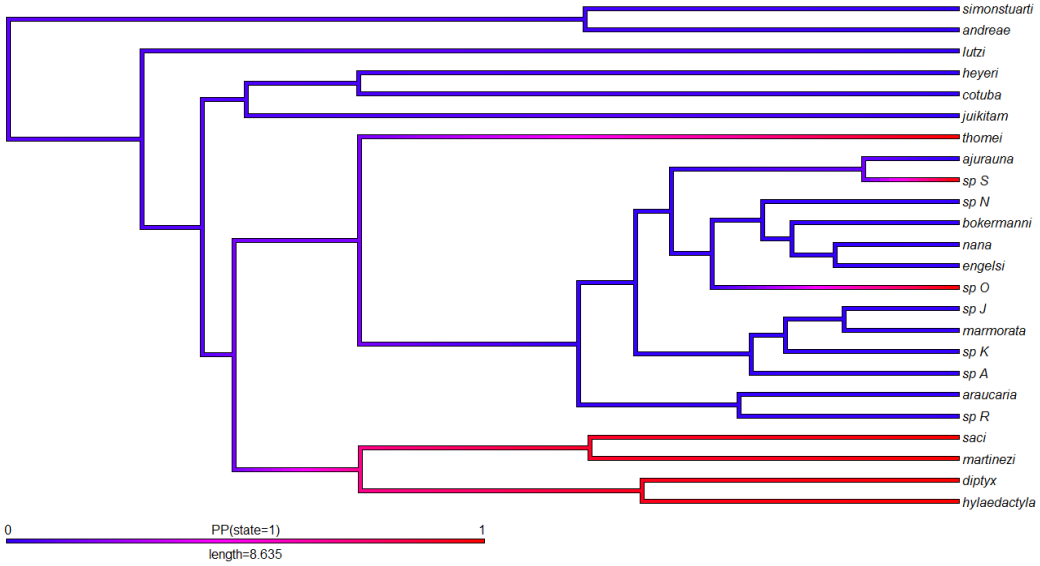
Para caracteres qualitativos, o sinal filogenético foi alto para os três caracteres testados (Tabela 15): pulsos (presença vs. ausência), modulação linear de frequência (presença vs. ausência) e habitat de vocalização (florestal vs. área aberta). Os modelos evolutivos testados para dados discretos (ER e ARD) não diferiram significativamente entre os dois modelos de evolução (Tabela 11), então se assumiu uma taxa de evolução constante para eles (modelo ER). O mapeamento do caráter "pulso" indica a perda convergente de estrutura pulsada do canto pelo menos três vezes na evolução de *Adenomera*. Sinais pulsados podem estar na base de *Adenomera*, e sendo assim, uma das perdas dessa estrutura pode representar uma derivação compartilhada pelas espécies do clado *A. marmorata*, considerando outros eventos independentes de perda de pulsos (*A. lutzi* e *A. saci*), e um hipotético surgimento secundário de pulsos em *A. araucaria* (Figura 33). O estado de caráter florestal (estado 0) para o caráter habitat de vocalização se manteve nas primeiras divergências em *Adenomera*, com quatro eventos independentes de ocupação de áreas abertas (estado 1): uma mudança para áreas abertas define o clado *A. hylaedactyla*+*A. martinezi*; uma mudança em *A. thomei*; uma mudança em "sp. S", espécies irmã da espécie florestal *A. ajurauna*; e uma mudança em "sp. O", irmã de um clado formado por quatro espécies florestais (Figura 34). A modulação linear de frequência foi analisada anteriormente como caráter contínuo e foi discretizado para uma visualização alternativa dos cenários evolutivos (categorização na seção 4.3). A perda da modulação separa o clado das espécies irmãs *A. araucaria* e "sp. R", cujas modulações de seus cantos são conspícuas, do restante do clado *A. marmorata*. Dentro desse clado, há dois reaparecimentos independentes, no clado *A. ajurauna*+*Adenomera* sp. S e em *A. marmorata* (Figura 35). A perda da modulação também ocorre convergentemente em duas espécies de área aberta (*A. martinezi* e *A. thomei*). A tendência à perda da modulação pode estar ligada ao clado *A. martinezi*, pois a vocalização de *A. saci* apresenta, em média, pouca modulação (Tabela 3 e 4).

Figura 33 – Densidade posterior do mapeamento estocástico sobre o caráter “pulsos” (ausência: 0; presença: 1).



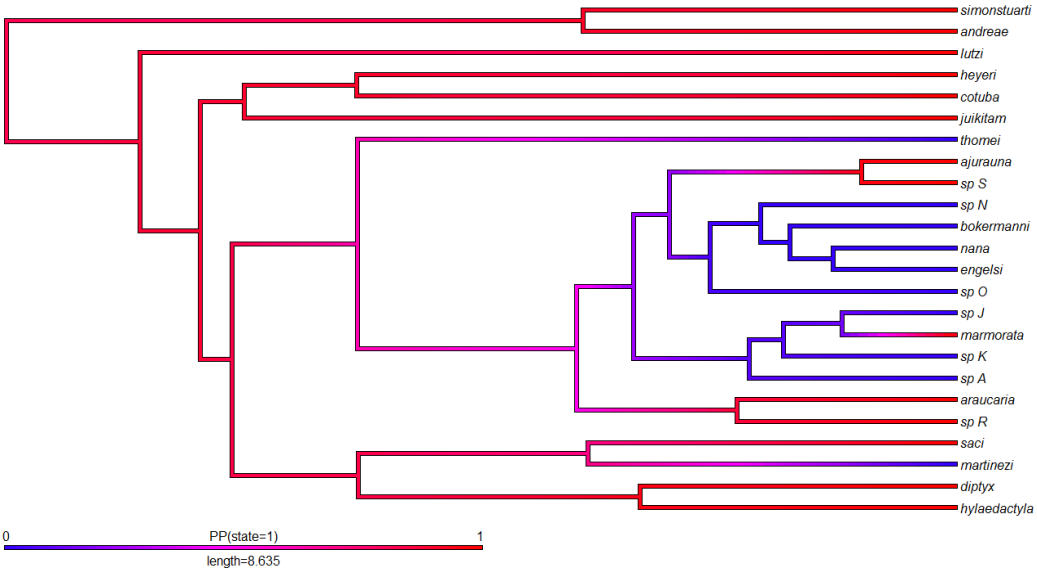
Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 34 – Densidade posterior do mapeamento estocástico sobre o caráter “habitats de vocalização” (florestal: 0; área aberta: 1) com a maior probabilidade posterior incorporada.



Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 35 – Densidade posterior do mapeamento estocástico sobre o caráter "modulação de frequência" (ausência: 0; presença: 1) com a maior probabilidade posterior incorporada.



Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 15 – Pareamentos dos ajustes aos modelos evolutivos para dados discretos. Modelos evolutivos: ER (*equal-rates model*); ARD (*all-rates different model*). Caracteres (estados do caráter): pulsos, PUL (presença vs. ausência); habitat de vocalização, HVO (florestal vs. área aberta); modulação linear de frequência, MLF (presença vs. ausência). Descritores estatísticos: logL (log-verossimilhança); AIC (critério de Akaike); AICc (critério de Akaike corrigido); χ^2 (teste qui-quadrado); p (valor de p).

	SINAL FILOGENÉTICO	**MODELOS EVOLUTIVOS**						**χ^2**
		ER			**ARD**			**ER vs. ARD**
	p	**logL**	**AIC**	**AICc**	**logL**	**AIC**	**AICc**	**p**
PUL	0,004	11,19	24,38	24,56	11,12	26,25	26,82	0,71
HVO	0,03	-14,92	31,85	32,03	-13,44	30,87	31,44	0,08
MLF	0,03	-13,29	28,57	28,75	-12,78	29,55	30,12	0,31

Fonte: Elaborada pelo autor

5 DISCUSSÃO

5.1 Recaracterização acústica, reavaliação das diagnoses de espécies e mudanças taxonômicas futuras

A complexidade de padrões de modulação de amplitude em *Adenomera* tem sido nomeada e analisada de diferentes formas. Para aqueles padrões com modulação mais fraca ou irregular ao longo do sinal, termos como *pulse-like* (pseudopulsos é um termo às vezes correspondente em português) ou simplesmente descritos como modulações que lembram pulsos foram empregados (KWET; ANGULO, 2002; ANGULO et al.; 2003; BOISTEL et al.; 2006; ANGULO; ICOCHEA, 2010). Com a implementação de novas ferramentas de programação na interface dos programas SoundRuler e MATLAB para o reconhecimento e delineamento automático de sinais acústicos especificamente de *Adenomera*, os padrões de modulação de amplitude e frequência puderam ser quantificados de forma padronizada pela primeira vez e foi possível acessar os padrões de variabilidade dessas modulações em vários níveis de análise.

As análises acústicas revelaram um padrão de variabilidade já esperado, em que os caracteres temporais foram muito mais variáveis do que os espectrais de maneira geral, considerando os vários níveis de análise (GERHARDT, 1991). As análises mostraram uma alta variabilidade nos padrões de modulação na amplitude ao longo dos sinais acústicos de algumas espécies com vocalizações pulsadas. A variabilidade por vezes é quase tão alta em nível individual quanto em populações e espécies. Inicialmente, esperava-se que esses padrões, sozinhos, pudessem ser características potencialmente peculiares aos indivíduos ou às espécies, mas a variação muito alta indica que, na verdade, as variações no envelope temporal desses sinais acústicos podem estar mais intimamente relacionadas a fatores extrínsecos, como a degradação sonora no ambiente ocupado pelos machos em atividade vocal (GERHARDT, 1994), em detrimento de fatores intrínsecos, como, por exemplo, o próprio comportamento acústico da espécie (ROBILLARD et al., 2006). Esse pressuposto é especialmente válido para as espécies do clado *A. hylaedactyla* e para *A. andreae*, e não deve ser generalizado enquanto uma base de dados mais abrangente e com maior tamanho amostral em vários níveis possa ser avaliada. Em contraponto, outras espécies com canto pulsado, como *A. martinezi*, apresentaram padrões de modulação de amplitude até certo ponto estereotipados em todos os níveis de análise.

Nesse sentido, é importante ressaltar que, independente dos processos envolvidos na alta variabilidade das modulações de amplitude em sinais pulsados, a ponto da unidade ‘pulso’ não ser detectada, a estrutura espectral correspondente apresenta uma série de modulações sinusoidais ao longo do sinal (mais ou menos acentuadas dependendo da espécie, que pode formar uma estrutura no formato de “U-invertido” a cada modulação). Essa evidência pode ser levada em conta na avaliação da estrutura pulsátil do sinal, enquanto que, em espécies com sinais não pulsados, só se observa um padrão de modulação linear, quando presente, em sua estrutura espectral (vide Figuras 7 e 11 para exemplos de pares de espécies com estrutura espectral distinta).

Todavia, um padrão particular de variação em nível individual (propriedade estática: CV ~ 5%) do parâmetro temporal “duração do canto” em comparação com a variação populacional e da espécie (CV $\geq$ 10%) foi detectado em *A. andreae*. A diferença na variabilidade desse caráter pode ser evidência de que essa característica temporal pode estar envolvida no reconhecimento individual, funcionando como assinatura acústica no sistema de comunicação dessa espécie. Esse padrão de baixa variabilidade individual em caracteres macrotemporais já foi demonstrado para anuros norte-americanos (GERHARDT, 1991), mas foi divergente do padrão encontrado para as demais espécies de *Adenomera* do presente estudo com tamanhos amostrais minimamente suficientes para esse tipo de inferência. Em contraste, os padrões de baixa variabilidade em parâmetros microtemporais do canto (duração do pulso e taxa de repetição do pulso) seguem o previamente descrito para esse tipo de caracteres acústicos (RYAN, 2001; GERHARDT; HUBER, 2002; WELLS, 2007), no qual é reconhecido um componente expressivo de reconhecimento específico nesse tipo de parâmetros acústicos. Portanto, os resultados obtidos para *A. andreae* vão de encontro ao esperado para o padrão de variabilidade para caracteres macrotemporais do canto.

Na análise de caracteres espectrais, observou-se que algumas espécies e espécies candidatas com sinais acústicos não pulsados possuíam a frequência fundamental em uma faixa de frequência muito mais alta do que nas vocalizações das outras espécies do gênero (Figura 10; Tabela 4). Os resultados apontam para um fenômeno evolutivo, no qual o harmônico fundamental deve ter sido deslocado para uma faixa de frequência correspondente ao segundo harmônico (= frequência dominante) das outras espécies, tornando-se o harmônico dominante nessas espécies. Superficialmente, não há uma associação clara entre o deslocamento do harmônico fundamental e tamanho corporal ou morfologia das espécies. É intrigante que espécies de diferentes clados tenham o harmônico deslocado, incluindo uma

espécie candidata do clado *A. hylaedactyla* (*A.* aff. *hylaedacyla* do Pará), enquanto as demais espécies (3 spp. candidatas e *A. coca*) desse clado possuem cantos pulsados e sem deslocamento da frequência fundamental, o que nos leva a pensar em processos evolutivos ligados ao comportamento vocal e/ou morfologia do aparato vocal. Um paralelo pode ser feito para o surgimento independente de sinais acústicos pulsados ao longo da filogenia do gênero, remetendo a explicações evolutivas morfológicas e/ou comportamentais, com casos reportados no grupo para espécies proximamente relacionadas e morfologicamente crípticas com padrões acústicos distintos (CARVALHO; GIARETTA, 2013a).

A amplitude relativa entre os primeiros dois harmônicos das espécies foi quantificada, com foco principal naquelas com frequência dominante coincidente com ambos, como previamente reportado em Carvalho e Giaretta (2013a, b). Três espécies apresentaram a frequência dominante absoluta coincidente com os dois harmônicos: *A. martinezi*, *A. saci* e *A. cotuba*. Em análises prévias em outro programa e outras configurações, a frequência dominante do canto de *A. juikitam* também foi coincidente com os dois harmônicos (Carvalho & Giaretta, 2013b). Em detrimento da variação individual para esse caráter, alguns procedimentos devem ser considerados para uma metodologia mais consistente para o estudo desse caráter, como a padronização de distância e nível de entrada de som do gravador. Isso a despeito das influências externas peculiares ao ambiente que podem gerar uma degradação sonora diferencial: machos vocalizando em vegetação mais ou menos densa, vocalizando enterrados ou expostos, a relação da umidade relativa do ar e a densidade do meio onde o som é propagado, etc (RYAN, 2001). Levando tudo isso em conta, há uma complexidade de fatores a ser considerada para a coleta e análise detalhada desse tipo de características do canto das espécies de *Adenomera*.

A variação geográfica dos cantos de *A. cotuba* e *A. juikitam* foi analisada com populações fora da distribuição conhecida para as espécies em sua descrição original (Carvalho & Giaretta, 2013b). É pertinente retomar que as espécies candidatas *Adenomera* sp. H e *Adenomera* sp. I foram renomeadas aqui como *A. cotuba* e *A. juikitam*, respectivamente (vide seção Material e Métodos). É possível reconhecer a concordância das distribuições de ambas as espécies entre o mapa com as novas distribuições para as espécies (Figura 1) e o polígono de distribuição para as espécies candidatas “sp. H” e “sp. I” (FOUQUET et al, 2014, p. 7). Assim, confirmamos que ambas as espécies descritas do Cerrado do centro-oeste brasileiro são mais amplamente distribuídas do que se conhecia. *Adenomera cotuba* tem distribuição estendida para o norte (TO) e nordeste (BA), enquanto

A. juikitam pode ser reconhecida como uma espécie relativamente bem distribuída no Cerrado do centro-oeste, norte (TO) e nordeste (MA e CE), incluindo regiões ecotonais no norte e nordeste do país. A distribuição de *A. juikitam* para o estado do Ceará é confirmada: populações eram preliminarmente atribuídas *A.* cf. *juikitam* até então (Roberto & Loebmann, 2016). O mapa de distribuição para essas espécies em Fouquet et al. (2014) inclui pontos de ocorrência em estados brasileiros para os quais não foram obtidos dados (*A. cotuba*: MA; *A. juikitam*: PI), assim como a distribuição reportada aqui de *A. cotuba* para o estado da Bahia (Figura 1). É provável, com base nos dados obtidos em campo, que ambas as espécies estejam restritas a ambientes rupestres, mesmo que associadas a habitats sombreados e florestais (*A. cotuba* foi amostrada em uma fitofisionomia de Cerradão denso com afloramentos rochosos no município de Paranã, TO).

Adenomera cotuba e *A. juikitam* foram descritas da mesma localidade e foram encontradas em sintopia na localidade tipo: Teresina de Goiás, GO (CARVALHO; GIARETTA, 2013b). A co-ocorrência sintópica de machos em atividade vocal também foi observada em Palmas (TO). A limitação do tamanho amostral para gravações em ambas as localidades pode ter refletido nos resultados da análise acústica para ambas as espécies em sintopia em alopatria, com a conclusão preliminar que a variação acústica encontrada em casos de sintopia não diferiram mais do as variações observadas para as espécies separadamente. Logo, explorando os dados obtidos, não foi possível enxergar alguma evidência de mecanismo de deslocamento de caracteres nas variáveis acústicas nos casos de sintopia em relação às diferenças interespecíficas como um todo (Apêndice B). Para um estudo recente abordando o mecanismo adaptativo de deslocamento de caracteres acústicos para espécies de anuros Neotropicais, filogeneticamente próximas, e com distribuição simpátrica, vide Jansen et al. (2016).

Do ponto de vista taxonômico, o material analisado até o presente o momento para o par de espécies focais da revisão (*A. andreae—A. hylaedactyla*) é suficiente para os atos nomenclaturais necessários, que basicamente são: i) a restrição da série tipo de *A. andreae* após a confirmação de haver duas espécies contidas nela (idealmente mediante acesso de mais informações/fotografias do parátipo ZSM 145/11/1), será possível avaliar se a série tipo de *A. andreae* é mista; ii) o reconhecimento das populações apontadas como distintas de *A. hylaedactyla* com base em evidências fenotípicas, atualmente atribuídas a essa espécie nominal (*Adenomera* aff. *hylaedactyla*; *Adenomera* “Cerrado” e *Adenomera* “Vilhena”), mesmo que a integração de dados genéticos possa fornecer um melhor suporte às diagnoses

fenotípicas formuladas aqui em relação a outras espécies; iii) o reconhecimento da espécie candidata *Adenomera* sp. A (táxon irmão do clado formado por *A. marmorata*, “sp. J” e “sp. K”) como distinta das outras linhagens desse clado, visto que há uma diferença qualitativa na estrutura espectral do canto dessa população; iv) o reconhecimento das espécies candidatas “sp. R” e “sp. S” como distintas de suas respectivas espécies irmãs (*A. araucaria* e *A. ajurauna*) por apresentarem padrões morfológicos e/ou cromáticos, e acústicos divergentes das espécies nominais.

Por outro lado, alguns pontos ainda necessitam de mais informações para uma decisão contundente: i) o *status* taxonômico de *A. coca* é especialmente problemático por falta de tamanho amostral: a série tipo dessa espécie é composta apenas por três indivíduos, e só há uma gravação de um indivíduo disponível no presente momento, somado ao fato de que essa espécie tem distribuição restrita a uma região particular da Bolívia (ANGULO; REICHLE, 2008); ii) as diferenças acústicas das populações atribuídas aqui como *A.* cf. *diptyx* não são suficientes para o reconhecimento dessas populações como distintas da espécie nominal, mesmo que a distribuição daquelas seja completamente disjunta da distribuição histórica definida a *A. diptyx*. Dados genéticos e um maior tamanho amostral de espécimes e gravações se fazem necessários para uma melhor avaliação da identidade específica das duas populações de *A.* cf. *diptyx* do nordeste do Brasil; iii) o *status* taxonômico das espécies candidatas “sp. N” e “sp. O” em relação a *A. bokermanni*, uma vez que o tamanho amostral para as primeiras duas linhagens é baixo, além do fato de que não há uma associação inequívoca entre morfótipo e padrão acústico para “sp. N”; iv) a variação acústica em “sp. J” e “sp. K” é notável e merece uma abordagem mais compreensiva para o melhor entendimento dos padrões fenotípicos e genéticos entre elas e delas em relação à espécie nominal *A. marmorata*.

Uma questão taxonômica adicional remete à espécie candidata do clado *A. martinezi* (*Adenomera* sp. B), com ocorrência reportada apenas para o município de Carolina, MA (FOUQUET et al., 2014). Esse município foi uma das localidades incluídas nos pontos de coleta em campo (ponto 23, Figura 1). Nessa localidade, três espécies diferentes foram amostradas, para as quais um padrão acústico pôde ser associado aos respectivos morfótipos: *A. juikitam*, *A.* cf. *hylaedactyla* e *A.* cf. *diptyx*. Nenhum desses morfótipos ou respectivos padrões acústicos pode ser associado às vocalizações de *A. martinezi* ou *A. saci*. Fotografias de *Adenomera* sp. B foram enviadas pelo primeiro autor do trabalho supracitado. O padrão morfológico pode muito provavelmente ser associado a *A.* cf. *hylaedactyla*, com alguma

possibilidade de que possa representar *A.* cf. *diptyx*. Há dois pontos importantes a serem considerados: há um registro relativamente recente de ocorrência de *A. saci* para o estado de Maranhão (ARAÚJO et al., 2015); e as espécies desse clado (*A. martinezi* e *A. saci*) tem morfologia muito particular. Portanto, a explicação mais plausível para o *status* taxonômico e posição filogenética de *Adenomera* sp. B em Fouquet et al. (2014) seja que a amostra de tecido utilizada na filogenia não corresponde ao seu espécime testemunho e é, na verdade, oriundo de um indivíduo de *A. saci* ("sp. B" é irmã de *A. saci* na filogenia), e o provável *A.* cf. *hylaedactyla* de Carolina, MA, ser coespecífico ao morfótipo do presente estudo, muito provavelmente uma população do clado *A. hylaedactyla* com base nos padrões morfológicos de coloração e vocalização aqui descritos.

5.2 Caracteres acústicos, tamanho corporal e habitat de vocalização sob abordagem comparativa

Para dados contínuos, além de um alto sinal filogenético multivariado para os caracteres acústicos e para o tamanho corporal, tendências evolutivas apareceram para a maior parte dos caracteres testados separadamente através do parâmetro K de Blomberg, e para quatro caracteres através do parâmetro λ de Pagel (Tabela 7). Para o caráter "tamanho", as variações entre espécies são até certo ponto pequenas ao longo da filogenia, a despeito de *A. lutzi*, que é uma espécie atipicamente grande no gênero. O caráter "frequência fundamental" está inversamente correlacionado e teoricamente limitado pelo tamanho corporal do indivíduo. Uma possível restrição (*constraint*) morfológica poderia explicar a relativa invariabilidade nesse caráter, ressalvadas as espécies que têm o harmônico fundamental deslocado para frequências mais altas (Figuras 9, 10). Nas correlações entre variáveis acústicas e CRC, a frequência dominante foi a única variável que se correlacionou significativamente com o tamanho em *Adenomera*. Essa correlação negativa entre tamanho e frequência é esperada do ponto de vista morfológico (MARTIN, 1972) e segue o padrão descrito anteriormente em outros estudos (GERHARDT; HUBER, 2002; GINGRAS et al., 2012), mesmo levando em conta a dependência filogenética entre as espécies. Além disso, é importante ressaltar que a força seletiva atuando contra a variabilidade (seleção estabilizadora) pode estar intimamente relacionada às propriedades estáticas acústicas, principalmente caracteres espectrais e microtemporais, que são identificadas em anuros como

importantes parâmetros para o reconhecimento específico em sistemas vocais de comunicação (GERHARDT; HUBER, 2002; WELLS, 2007).

Caracteres contínuos com melhor ajuste ao modelo Ornstein-Uhlenbeck (duração do canto, pico relativo de amplitude de frequência fundamental), no qual se espera que exista uma força seletiva estabilizadora no sistema, podem também estar associados a possíveis *constraints* morfofisiológicos. A frequência fundamental está correlacionada ao tamanho corporal de anuros, de modo que a frequência é principalmente determinada pela massa das cordas vocais (Martin, 1972): indivíduos maiores virtualmente possuem maiores aparatos vocais, e cordas vocais por consequência. Assim, é possível considerar que exista um *constraint* morfológico atuando como força estabilizadora desse caráter. Isso também pode explicar em parte o caráter de pico de amplitude relativo do canto ajustado ao modelo O-U1, uma vez que há uma dependência biomecânica de produção de som para características acústicas específicas, logo, um possível *constraint* morfofisiológico. Por sua vez, o caráter "duração do canto" teve o maior valor de alfa (vide os parâmetros para O-U1; Tabela 10), o que remete a uma seleção estabilizadora forte atuando sobre esse caráter. Ainda assim, vale a ressalva de que a duração do canto é uma variável macrotemporal, para as quais é atribuído um componente expressivo de seleção sexual, e padrões de seleção direcional podem ser esperados, enquanto variáveis microtemporais (p. ex., propriedades estáticas dos pulsos) estão ligadas ao reconhecimento específico (GERHARDT; HUBER, 2002). Estudos futuros podem testar a contribuição desse caráter no reconhecimento específico em *Adenomera* em comparação aos possíveis *constraints* morfofisiológicos subjacentes que explicariam a tendência evolutiva desse caráter sob uma considerável força seletiva estabilizadora (Tabela 10).

Não houve diferença significativa entre os modelos testados (BM e O-U) para as outras variáveis testadas (CRC, cantos/min. e frequência dominante), e então se assumiu que o modelo mais simples (BM), i.e., com menos pressupostos subjacentes, teria o melhor ajuste às tendências evolutivas dos caracteres, em casos em que fatores estocásticos de mutação e deriva genética (evolução neutra) fossem os melhores preditores de mudança evolutiva desses caracteres (KIMURA, 1991; DINIZ-FILHO, 2000; ALONSO et al., 2006). Em contraste ao ajuste do caráter "cantos/min." ao modelo de movimento Browniano, regido por fatores estocásticso, a associação significativa entre esse caráter e os habitats ocupados pelas espécies apontaram para tendências evolutivas associadas a cada um desses ambientes. Isso pode ser uma evidência de que estratégias distintas de comunicação acústica evoluíram em ambientes

abertos e florestais, em uma hipótese assumindo que diferentes taxas de repetição de canto em cada um dos habitats de vocalização em *Adenomera* sejam um reflexo de seleção natural diferencial sobre esse caráter. O gatilho das diferenciações acústicas (processos macroevolutivos) em função do habitat pode ter origem nas diferentes formas e níveis de efeito que diferentes ambientes podem ter na transmissão e eficiência do sinal de anúncio (atenuação, degradação, reverberação, etc.; RYAN, 1988).

O mapeamento do caráter discreto "pulsos" indicou perdas convergentes (pelo menos três vezes) dessa estrutura acústica. Com o posicionamento filogenético de *A.* aff. *hylaedactyla* (Pará), será possível confirmar a hipótese de pelo menos mais um desaparecimento convergente de pulsos, assumindo que esse táxon deve estar posicionado no clado *A. hylaeadactyla*, cujas espécies têm canto pulsado. O habitat de vocalização das espécies parece não estar associado aos eventos de perdas de pulsos nas vocalizações de *Adenomera*, pois *A. lutzi* e *A. saci* perderam convergentemente pulsos, mas são espécies que vocalizam em floresta e em campos rupestres, respectivamente. Além disso, as espécies irmãs *A. araucaria* e *Adenomera* sp. R aparentemente ocupam os mesmos ambientes no sul do país (Santa Catarina), aquela com canto pulsado, esta com canto não pulsado (Figura 11).

A atribuição dos habitats de vocalização para em *Adenomera*, especialmente no clado *A. marmorata*, é dúbio para algumas espécies devido à falta de informações ou pela possibilidade de existirem estados intermediários para esse caráter. O ruído dessa classificação incerta pode ter tido uma influência negativa nas tendências evolutivas envolvendo habitats, especialmente no clado *A. marmorata*, com menção especial aos estados desse caráter para as espécies do subclado formado por espécies do sul do Brasil (particularmente "sp. N" e "sp. O"), sendo *Adenomera* sp. O a única espécie do subclado classificada como de área aberta.

Embora haja uma tendência forte para o caráter, algumas espécies que preferencialmente ocupam áreas sombreadas, podem ser, mesmo que menos comumente, amostradas em áreas abertas e/ou antropizadas. O contrário também já foi observado para *Adenomera* "Cerrado" e *A.* aff. *hylaedactyla*. Estas espécies ocorrem em áreas totalmente descaracterizadas dentro de cidades grandes, mas também foram amostradas em atividade de vocalização dentro de fragmentos florestais, *A.* aff. *hylaedactyla* até mesmo vocalizando sintopicamente com uma espécie florestal (*A. andreae*). Levando isso em conta, é difícil se assegurar do estado de caráter para algumas espécies, ou melhor, do grau de plasticidade

ambiental para cada uma delas, e as inferências evolutivas para o habitat de vocalização se tornam mais limitadas.

A modulação linear de frequência pode ter uma relação direta com o comportamento acústico, i.e., a conformação das estruturas do aparato vocal controladas por musculatura associada do aparato vocal, de modo a se obter uma tensão maior nas cordas vocais e, por conseguinte, uma maior modulação linear de frequência (MARTIN, 1972; RYAN, 1988). Apesar de a tendência evolutiva ter aparecido a partir da categorização desse dado contínuo, vale a ressalva de que esse caráter teve uma alta variabilidade nas análises intraespecíficas (Tabelas 4, 6), que pode ser reflexo do comportamento acústico nessas espécies.

Para os MCFs explorados nesse capítulo, alguns caracteres podem apresentar tendências evolutivas diferentes se mapeados em outras reconstruções disponíveis em Fouquet et al. (2014), assim como a reclassificação dos estados de caráter para o habitat de vocalização. A interpretação evolutiva acerca do caráter "pulsos" pode ser melhorada com a confirmação de algumas inter-relações internas, principalmente a respeito da posição dúbia do clado *A. thomei*. Essa espécie pode aparecer em outras reconstruções como irmã do clado de espécies de área aberta e canto pulsado (clados *A. hylaedactyla* e *A. martinezi*, com exceção da perda de pulsos *A. saci*), sendo que ambos os estados de caráter (área aberta e estrutura pulsada) são compartilhas com *A. thomei* (vide Figura 4). Alternativamente, essa espécie, como na reconstrução utilizada nesse estudo para os mapeamentos filogenéticos (Figura 5), pode aparecer como irmã do clado *A. marmorata*, fazendo menção ao fato de que os padrões morfológicos e cromáticos de *A thomei* são mesmo de fato mais similares aqueles do subclado que contém *A. bokermanni*. Com o acesso a outras topologias com informação de comprimento de ramo, será possível explorar as congruências dos mapeamentos dos caracteres à luz de diferentes hipóteses filognéticas para esse táxon.

6 PROJEÇÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

A variabilidade dos padrões de modulação na amplitude e frequência para todas as espécies de *Adenomera* foi quantificada pela primeira vez sob uma abordagem única: metodologia padronizada e através de análise automatizada, considerando vários níveis de análise [indivíduo, população, entre populações (= espécie), entre espécies]. Com isso, estudos em temáticas complementares podem ser desenvolvidos a partir dos padrões de variabilidade identificados para os caracteres acústicos. Todavia, o tamanho amostral muito

baixo para algumas espécies (N = 1), principalmente para aquelas espécies com ocorrência restrita fora do Brasil, foi o ponto que mais limitou o estudo de variabilidade e padrões acústicos para esse grupo e interpretações taxonômicas e evolutivas. Com o aumento do tamanho amostral de gravações para os vários níveis de análise, será possível reavaliar alguns aspectos dos padrões analisados e descritos nesse estudo para a diversidade e variabilidade acústica em *Adenomera*.

Do ponto de vista taxonômico, ainda existem alguns passos e desafios a serem vencidos no que concerne o reconhecimento da diversidade críptica, e resolução taxonômica de espécies com histórico nomenclatural problemático e grandes listas sinonímicas. Um exemplo disso é o resultado das análises para *A. hylaedactyla*. Mesmo que padrões fenotípicos particulares tenham sido reconhecidos para populações atribuídas a essa espécie, uma abordagem integrativa faz-se necessária, em que dados genéticos sejam incorporados aos resultados do presente estudo e possam contribuir para as decisões taxonômicas desse complexo de espécies, assim como uma melhor avaliação da diversidade críptica potencial associada ao nome *A. diptyx* no nordeste do Brasil. Em relação a *A. andreae*, uma redescrição deve ser feita com base na série de topótipos coletados nesse estudo, para os quais há a associação de morfótipo, padrões acústicos e amostras de tecido para as análises moleculares futuras. Com os resultados reunidos de ambas as análises, a revisão taxonômica do par de espécies amazônicas *A. andreae—A. hylaedactyla*, com a descrição formal das espécies ainda sem nome, poderá ser concluída.

Em relação às diferenças acústicas encontras para o clado *A. marmorata*, os próximos passos devem ser o incremento dos tamanhos amostrais para o subclado formado pelas espécies do sul do Brasil, especialmente para as espécies candidatas *Adenomera* sp. N e *Adenomera* sp. O. Em relação ao subclado formado por espécies do sudeste do Brasil, faz-se necessário a coleta sistemática de gravações ao longo da distribuição das linhagens *Adenomera* sp. J e *Adenomera* sp. K levando em conta fatores histórico-evolutivos, refletindo padrões de variação geográfica, padrões clinais associados a regiões, altitude, etc., e extrínsecos (características físicas que mais influenciam caracteres acústicos) para o melhor entendimento da alta variabilidade acústica desse agrupamento.

Adenomera é um táxon que representa um organismo modelo promissor para estudos em temáticas complementares e multidisciplinares envolvendo os padrões acústicos descritos nesse capítulo. A variação das modulações de amplitude e frequência em algumas espécies de *Adenomera* é expressiva. Pesquisas futuras devem focar numa série de dados para o

melhor entendimento desses padrões e seus processos evolutivos subjacentes. Em campo, é possível coletar dados de amplitude do sinal, de modo que seja possível associar intensidade sonora aos padrões temporais e espectrais. Além disso, estudos complementares poderiam ser conduzidos experimentalmente, em que uma série de sinais acústicos semelhantes nos parâmetros obtidos para a espécie poderiam ser gerados artificialmente em programa específico, alterando apenas o nível de modulação de amplitude interna (modulação entre pulsos) e a regularidade dela ao longo do sinal (regular ao longo do sinal, e restrita nas metades inicial ou final por exemplo). Experimentos sob essa abordagem já foram aplicados a outros grupos anuros, por exemplo, para hilídeos norte-americanos (GERHARDT, 1981). Com esse tipo de delineamento, é possível lançar mão de hipóteses para os mecanismos de seleção sexual e reconhecimento específico em espécies de *Adenomera* através de experimentos acústicos.

Outros fenômenos acústicos descritos aqui sobre o deslocamento da frequência fundamental e o aparecimento de estrutura pulsada são temas que merecem atenção. Os próximos passos para o melhor entendimento dos processos envolvidos na produção desses componentes acústicos, ambos com surgimento convergente em diferentes alturas da filogenia para *Adenomera*, envolvem a investigação da morfologia vocal, buscando uma explicação estrutural (anatômica) para os diferentes componentes acústicos a partir de diferenças morfológicas no aparato vocal dessas espécies, como já reportado para outros leptodactilídeos (RYAN; DREWES, 1990; GRIDI-PAPP et al., 2006); e a integração dos dados morfológicos e acústicos a uma abordagem biomecânica de produção vocal nesse grupo taxonômico. Em uma hipótese alternativa ou complementar à explicação morfológica para os diferentes padrões de vocalização, ou seja, as diferenças sendo explicadas sobretudo por diferenças no comportamento vocal, investigar os processos mecanísticos ligados à produção dos componentes acústicos distintos em espécies de *Adenomera*, com enfoque nos casos recorrentes de mudanças acústicas qualitativas (temporais ou espectrais) desacompanhadas de diferenciação morfológica (*A. martinezi* e *A. saci*, *A. araucaria* e *Adenomera* sp. R, *Adenomera* sp. A, *A.* aff. *hylaedactyla*). Nessa hipótese, a produção de diferentes componentes acústicos seria possível a partir de um aparato vocal exaptado a comportamentos vocais distintos e não restringiria, a priori, a produção de diferentes vocalizações mediante mudança no comportamento vocal (GRIDI-PAPP, 2014).

7 REFERÊNCIAS

ADAMS, D. C. A generalized K statistic for estimating phylogenetic signal from shape and other high-dimensional multivariate data. **Systematic Biology**, v. 63, n. 5, p. 685-697, 2014.

ALMEIDA, A. P.; ANGULO, A. A new species of *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the state of Espírito Santo, Brazil, with remarks on the systematics associated populations. **Zootaxa**, v. 1334, p. 1-25, 2006.

ALONSO, D.; ETIENNE, R. S.; McKANE, A. J. The merits of neutral theory. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 21, n. 8, p. 451-457, 2006.

AMPHIBIAN SPECIES OF THE WORLD: AN ONLINE REFERENCE, VERSION 6.0. Produced by Darrel R. Frost. American Museum of Natural History, New York. Disponível em: <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>. Acesso em: 10 jan. 2017.

ANGULO, A.; COCROFT, R. B.; REICHLE, S. Species identity in the genus *Adenomera* (Anura: Leptodactylidae) in southeastern Peru. **Herpetologica**, v. 59, n. 4, p. 490-504, 2003.

ANGULO, A.; ICOCHEA, J. Cryptic species complexes, widespread species and conservation: lessons from Amazonian frogs of the *Leptodactylus marmoratus* group (Anura: Leptodactylidae). **Systematics and Biodiversity**, v. 8, n. 3, p. 357-370, 2010.

ANGULO, A.; REICHLE, S. 2008. Acoustic signals, species diagnosis, and species concepts: the case of a new species of *Leptodactylus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from the Chapare region, Bolivia. **Zoological Journal of the Linnean Society**, v. 152, n. 1, p. 59-77, 2008.

ARAÚJO, K. C.; SANTOS, M. V.; LIMA, T. G. P.; ANDRADE, E. B.; WEBER, L. N. First record of *Adenomera saci* Carvalho & Giaretta, 2013 (Anura: Leptodactylidae) for the State of Maranhão, Northeastern Brazil. **Herpetology Notes**, v. 8, p. 183-185, 2015.

BERNECK, B. M.; COSTA, C. O. R.; GARCIA, P. C. A. A new species of *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the Atlantic Forest of São Paulo State, Brazil. **Zootaxa**, v. 1795, p. 46-56, 2008.

BOISTEL, R.; MASSARY, J-C.; ANGULO, A. Description of a new species of the genus *Adenomera* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from French Guiana. **Acta Herpetologica**, v. 1, n. 1, p. 1-14, 2006. Errata em: **Acta Herpetologica**, v. 1, n. 2, p. 159-162, 2013.

BOULENGER, G. A. Descriptions of new South American batrachians. **Annals and Magazine of Natural History**, v. 9, n. 2, p. 427-433, 1918.

BLOMBERG, S. P.; GARLAND, T.; IVES, A. R. Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. **Evolution,** v. 57, n. 4, p. 717-745, 2003.

CARVALHO, T. R.; GIARETTA, A. A. Taxonomic circumscription of *Adenomera martinezi* (Bokermann, 1956) (Anura: Leptodactylidae: Leptodactylinae) with the recognition of a new cryptic taxon through a bioacoustic approach. **Zootaxa**, v. 3701, n. 2, p. 207-237, 2013a.

CARVALHO, T. R.; GIARETTA, A. A. Bioacoustics reveals two new syntopic species of *Adenomera* Steindachner (Anura: Leptodactylidae: Leptodactylinae) in the Cerrado of central Brazil. **Zootaxa**, v. 3731, n. 4, p. 533-551, 2013. Errata em: **Zootaxa**, v. 3745, n. 3, p. 400, 2013b.

CASSINI, C. S. **Diversidade e evolução do gênero *Adenomera* Steindachner, 1867 (Anura, Leptodactylidae).** 2015. 266 p. + 4 ap. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, Zoologia) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro, 2015.

COPE, E. D. An examination of the Reptilia and Batrachia obtained by the Orton Expedition to Equador and the Upper Amazon, with notes on other species. **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, v. 20, p. 96-140, 1868.

DINIZ-FILHO, J. A. F. **Métodos Filogenéticos Comparativos.** Ribeirão Preto: Holos Editora, 2000. 120 p.

DUBOIS, A. Crossodactylodinae Fouquet, Blotto, Maronna, Verdade, Juncá & Trefaut Rodrigues, 2013 is an invalid junior synonym of Paratelmatobiinae Ohler & Dubois, 2012 (Amphibia, Anura). **Zootaxa**, v. 3700, n. 3, p. 499-500, 2013.

FOUQUET, A.; BLOTTO, B. L.; MARONNA, M. M.; VERDADE, V. K.; JUNCÁ, F. A.; DE SÁ, R. O.; RODRIGUES, M. T. Unexpected phylogenetic positions of the genera *Rupirana* and *Crossodactylodes* reveal insights into the biogeography and reproductive evolution of leptodactylid frogs. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 67, n. 2, p. 445-457, 2013.

FOUQUET, A.; CASSINI, C. S.; HADDED, C. F. B.; PECH, N.; RODRIGUES, M. T. Species delimitation, patterns of diversification and historical biogeography of the Neotropical frog genus *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae). **Journal of Biogeography**, v. 41, n. 5, p. 855-870, 2014.

FRECKLETON, R. P.; HARVEY, P. H.; PAGEL, M. Phylogenetic analysis and comparative data: a test and review of evidence. **The American Naturalist**, v. 160, n. 6, p. 712-726, 2002.

The amphibian tree of life. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 297, p. 1-371, 2006.

GARLAND, T. G., JR.; DICKERMAN, A. W.; JANIS, C. M.; JONES, J. A. Phylogenetic analysis of covariance by computer simulation. **Systematic Biology**, v. 42, n. 3, p. 65-292, 1993.

GERHARDT, H. C. Mating call recognition in the barking treefrog (*Hyla gratiosa*): responses to synthetic calls and comparisons with the green frog (*Hyla cinerea*). **Journal of Comparative Physiology**, v. 144, p. 17-25, 1981.

GERHARDT, H. C. Female mate choice in treefrogs: static and dynamic acoustic criteria. **Animal Behaviour**, v. 42, p. 615-635, 1991.

GERHARDT, H. C. The evolution of vocalization in frogs and toads. **Annual review of Ecology, Evolution, and Systematics**, v. 25, n. 1, p. 293-324, 1994.

GERHARDT, H. C.; HUBER, F. **Acoustic communication in insects and anurans: common problems and diverse solutions**. Chicago and London: University of Chicago Press, 2002. 531 p.

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

GRIDI-PAPP, M. Soundruler: acoustic analysis for research and teaching. Disponível em: < http://soundruler.sourceforge.net/main/>. 2007.

GRIDI-PAPP, M. Is the frequency content of the cals in North American treefrogs limited by their larynges? **International Journal of Evolutionary Biology**, v. 2014, p. 1-11, 2014

GRIDI-PAPP, M.; RAND, A. S.; RYAN, M. J. Animal communication: complex call production in the túngara frog. **Nature** v. 441, n. 7089, p. 38, 2006.

HACKATHON, R. et al. Phylobase: base package for phylogenetic structures and comparative data. Disponível em: < https://github.com/fmichonneau/phylobase>. 2016.

HARMON, L. J.; WEIR, J. T.; BROCK, C. D.; GLOR, R. E.; CHALLENGER, W. GEIGER: investigating evolutionary radiations. **Bioinformatics**, v. 24, n. 1, p. 129-131, 2008.

HERNÁNDEZ, C. E.; RODRÍGUEZ-SERRANO, E.; AVARIA-LLAUTUREO, J.; INOSTROZA-MICHAEL, O.; MORALES-PALLERO, B.; BORIC-BARGETTO, D.; CANALES-AGUIRRE, C. B.; MARQUET, P. A.; MEADE, A. Using phylogenetic information and comparative method to evaluate hypotheses in macroecology. **Methods in Ecology and Evolution**, v. 4, n. 5, p. 401-415, 2013.

HEYER, W. R. Studies on the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae) III. A redefinition of the genus *Leptodactylus* and a description of a new genus of leptodactylid frogs. **Contributions in Science, Los Angeles County Natural History Museum**, v. 155, p. 1-14, 1969.

_____. Systematics of the *marmoratus* group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). **Contributions in Science, Los Angeles County Natural History Museum**, v. 251, p. 1-50, 1973.

_____. Relationships of the *marmoratus* species group (Amphibia, Leptodactylidae) within the subfamily Leptodactylinae. **Contributions in Science, Los Angeles County Natural History Museum**, v. 251, p. 1-45, 1974.

_____. A preliminary analysis of the intergeneric relationships of the frog family Leptodactylidae. **Smithsonian contributions to zoology**, v. 199, p. 1-55, 1975.

_____. A discriminant function analysis of the frogs of the genus *Adenomera* (Amphibia: Leptodactylidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 89, p. 581-592, 1977.

HOLM. S. A simple sequentially rejective multiple test procedure. **Scandinavian Journal of Statistics**, v. 6, n. 2, 1979.

JANSEN, M.; PLATH, M.; BRUSQUETTI, F.; RYAN, M.J. Asymmetric frequency shift in advertisement calls of sympatric frogs. **Amphibia-Reptilia**, v. 37, n. 2, p. 137-152, 2016.

JOMBART, T. adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. **Bioinformatics**, v. 24, p. 1403-1405, 2008.

JOMBART, T.; DEVILLARD, S.; BALLOUX, F. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. **BMC Genetics**, v. 11, p 94, 2010.

KIMURA, M. The neutral theory of molecular evolution: a review of recent evidence. **The Japanese journal of genetics**, v. 66, n. 4, p. 367-386, 1991.

KING, A. A.; BUTLER, M. A. ouch: Ornstein-Uhlenbeck models for phylogenetic comparative hypotheses. Disponível em: < https://cran.r-project.org/web/packages/ouch/ouch.pdf>. 2009.

KWET, A. Bioacoustic variation in the genus *Adenomera* in southern Brazil, with revalidation of *Leptodactylus nanus* Müller, 1922 (Anura, Leptodactylidae). **Mitteilungen aus dem Museum für Naturkunde in Berlin, Zoologische Reihe Supplement**, v. 83, p. 56-68, 2007.

KWET, A.; ANGULO, A. A new species of *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae) from the *Araucaria* Forest of Rio Grande do sul (Brazil), with comments on the systematic status of southern populations of the genus. **Alytes**, v. 20, n. 1-2, p. 28-43, 2002.

KWET, A.; STEINER, J.; ZILLIKENS, A. A new species of *Adenomera* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) from the Atlantic rain forest in Santa Catarina, southern Brazil. **Studies on Neotropical fauna and environment**, v. 44, n. 2, p. 93-107, 2009.

LIAW, A.; WIENER, M. Classification and regression by randomForest. **R news**, v. 2, n. 3, p. 18-22, 2002.

LUTZ, B.; KLOSS, G. R. Anfíbios anuros do alto Solimões e Rio Negro. Apontamento sôbre algumas formas e suas vicariantes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 50, p. 625-678, 1952.

LYNCH, J. D. Evolutionary relationships, osteology, and zoogeography of leptodactyloid frogs. **Miscellaneous Publications of the University of Kansas Museum of Natural History,** v. 53, p. 1-238, 1971.

LUTZ, A. Observações sobre Batrachios brasileiros. **Memórias do Intituto Oswaldo Cruz**, v. 19, n. 2, p. 139-174, 1926.

LUTZ, A. Second paper on brasilian and some closely related species of the genus *Leptodactylus*. **Memórias do Intituto Oswaldo Cruz**, v. 23, n. 1, p. 21-34, 1930.

MADDISON, W. P.; SLATKIN, M. Null models for the number of evolutionary steps in a character on a phylogenetic tree. **Evolution,** v. 45, n. 5, p. 1184-1197, 1991.

MALNATE, E. V. A catalog of primary types in the herpetological collections of the Academy of Natural Sciences, Philadelphia (ANSP). **Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia**, v. 123, n. 9, p. 345-375, 1971.

MARTIN, W. F. Evolution of vocalization in the genus *Bufo*. In. BLAIR, W. F. (Ed.). **Evolution in the genus *Bufo***. Austin: University of Texas Press, 1972. cap. 15, p. 279-309.

MARTY, C.; GAUCHER, P. **Sound guide of tailess amphibians of French Guyana**. França: Centre Bioacoustique Alpin, 1999.

MATLAB: the language of technical computing, version 6.5.2. Natick: The MathWorks Inc. 2004.

MAXSON, L. R.; HEYER, W. R. Molecular Systematics of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia: Leptodactylidae). **Fieldiana (Zoology)**, v. 41, p. 1-13, 1988.

McLISTER, J. D.; STEVENS, E. D.; BOGART, J. P. Comparative contractile dynamics of calling and locomotor muscles in three hylid frogs. **Journal of Experimental Biology,** v. 198, p. 1527-1538, 1995.

MÜLLER, V. L. Neue oder seltene Reptilien und Batrachier der zoologischen Sammlung des bayerischen Staates. **Zoologischer Anzeiger**, v. 57, p. 38-42, 1923.

OHLER, A.; DUBOIS, A. Validation of two familial nomina nuda of Amphibia Anura. **Alytes**, v. 28, n. 3-4, p. 162-167, 2012

ORME, D. et al. caper: comparative analysis of phylogenetics and evolution in R. Disponível em: < https://cran.r-project.org/web/packages/caper/caper.pdf> 2013.

OKSANEN, J. et al. H. vegan: Community ecology package, 2nd version, 2013. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/index.html>

PAGEL, M. D. Inferring the historical patterns of biological evolution. **Nature**, v. 401, p. 877-884, 1999.

PARADIS, E.; CLAUDE, J.; STRIMMER, K. APE: Analyses of Phylogenetics and Evolution in R language. **Bioinformatics**, v. 20, n. 2, p. 289-290, 2004.

PYRON, A. R.; WIENS, J. J. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 61, n. 2, p. 543-583, 2011.

R CORE TEAM. R foundation for statistical computing, version 3.2.2. Vienna, Austria. Disponível em: <http://www.R-project.org>. 2015.

REVELL, L. J. phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). **Methods in Ecology and Evolution**, v. 3, p. 217-223, 2012.

ROBERTO, I. J.; LOEBMANN, D. Composition, distribution patterns and conservation priority areas for the herpetofauna of the state of Ceará, northeastern Brazil. **Salamandra**, v. 52, n. 2, p. 134-152, 2016.

ROBILLARD, T.; HÖBEL, G; GERHARDT, H. C. Evolution of advertisement signals in North American hylid frogs: vocalizations as end-products of calling behavior. **Cladistics,** v. 22, n. 6, p. 533-545, 2006.

RUVINSKY, I.; MAXSON, R. Phylogenetic relationships among bufonoid frogs (Anura: Neobatrachia) inferred from mitochondrial DNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 5, n. 3, p. 533-547, 1996.

RYAN, M. J. Constraints and patterns in the evolution of anuran acoustic communication. In: FRITZSCH, B. (Ed.). **The evolution of amphibian auditory system**. New York: John Wiley and Sons, 1988. cap. 28, p. 637-677.

RYAN, M. J. **Anuran acoustic communication**. Washington: Smithsonian Institution Press, 2001. 252 p.

RYAN, M. J.; DREWES, R. C. Vocal morphology of the *Physalaemus pustulosus* species group (Leptodactylidae): morphological response to sexual selection for complex calls. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 40, n. 1, p. 37-52, 1990.

SCHLIEP, K. P. phangorn: phylogenetic analysis in R. **Bioinformatics**, v. 27, n. 4, p. 592-593, 2011.

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

VENABLES, W. N.; RIPLEY, B. D. **Modern Applied Statistics with S**. New York: Springer, 2002, 498 p.

WATKINS, W. A. The harmonic interval: fact or artifact in spectral analysis of pulse trains. **Proceedings of the second symposium on marine bio-acoustics**, v. 2, p. 15-43, 1968.

WATTERS, J. L.; CUMMINGS, S. T.; FLANAGAN, R. L.; SILER; C. D. Review of morphometric measurements used in anuran species descriptions and recommendations for a standardized approach. **Zootaxa**, v. 4072, n. 2, p. 477-495, 2016.

WELLS, K. D. **The ecology and behavior of amphibians.** Chicago and London: The University of Chicago Press, 2007. 1148 p.

ZAR, J. H. **Bioestatistical Analysis**. 5th ed. New Jersey: Prentice-Hall, 2009, 960 p.

CAPÍTULO 2 – DIVERSIDADE FENOTÍPICA E EVOLUÇÃO DOS SINAIS ACÚSTICOS EM *LEPTODACTYLUS* (ANURA, LEPTODACTYLIDAE, LEPTODACTYLINAE)

1 CONTEXTUALIZAÇÃO DO TÁXON MODELO: *LEPTODACTYLUS*

O táxon Leptodactylinae atualmente abriga 96 espécies, representado por espécies com distribuição desde a América do Norte (sul do Texas, EUA, e México), e ao longo de toda a extensão Neotropical, na América Central, ilhas do Caribe e América do Sul. A riqueza desse táxon é principalmente representada pelos gêneros *Leptodactylus* (74 spp.) e *Adenomera* (18 spp.) (FROST, 2017). O gênero *Leptodactylus* foi redefinido e classificado em cinco grupos fenéticos, principalmente com base em morfologia e comportamento por Heyer (1969): os grupos de *L. melanonotus*, *L. latrans* (anteriormente *L. ocellatus*), *L. pentadactylus*, *L. marmoratus* e *L. fuscus*. Pyron e Weins (2011) recuperaram o gênero *Hydrolaetare* como grupo irmão de todos os *Leptodactylus* em sentido estrito. Essa inter-relação entre os gêneros foi corroborada em estudos filogenéticos subsequentes (FOUQUET et al., 2013; DE SÁ et al., 2014). O grupo *L. marmoratus* foi realocado no gênero *Adenomera* (PYRON; WIENS, 2011).

Há dois estudos filogenéticos de base moderna (cladístico) que consideram estritamente o gênero *Leptodactylus* (PONSSA, 2008; DE SÁ et al., 2014). No primeiro estudo, foi disponibilizada uma hipótese filogenética apenas para o grupo de *L. fuscus* com base em caracteres fenotípicos (caracteres osteológicos principalmente). Tal estudo representou a primeira contribuição através de abordagem filogenética para o grupo *L. fuscus* (PONSSA, 2008), até então definido com base em padrões morfológicos e comportamentais (HEYER, 1969, 1978). Os resultados confirmaram a hipótese de monofiletismo desse grupo de espécies de *Leptodactylus* (PONSSA, 2008). No estudo mais recente (DE SÁ et al., 2014), foi publicada a primeira hipótese filogenética para o gênero através de dados genéticos com uma amostragem representativa de espécies de cada um dos grupos de *Leptodactylus*, além de distribuições e informações fenotípicas compiladas para as espécies, dentre outras informações pertinentes a esse táxon.

A posição filogenética de *Leptodactylus discodactylus* foi historicamente controversa. Essa espécie foi descrita originalmente em *Leptodactylus* (BOULENGER, 1884), mas um novo gênero foi proposto (*Vanzolinius*) para acomodar essa espécie (HEYER, 1974a). Em outro estudo (HEYER, 1974b), o mesmo autor investigou as inter-relações entre as espécies de *Adenomera*, e *V. discodactylus* foi recuperado como irmão de *Lithodytes* (grupo irmão de *Adenomera* atualmente). Mais recentemente, De Sá et al. (2005) investigaram as inter-relações entre *Vanzolinius* e outros gêneros de Leptodacatylinae (*Adenomera*, *Lithodytes* e

Leptodactylus). As análises recuperaram *Vanzolinius* embebido em *Leptodactylus*. A fim de manter *Leptodactylus* monofilético, esses autores propuseram a sinonimização de *Vanzolinius* a *Leptodactylus*. Os resultados obtidos por Frost et al. (2006) foram congruentes. A posição de *L. discodactylus* dentro do grupo *L. melanonotus* (sensu HEYER, 1969) foi recuperada também em estudos subsequentes (PYRON; WIENS, 2011; FOUQUET et al., 2013; DE SÁ et al., 2014).

2 OBJETIVOS

Os objetivos gerais desse capítulo foram investigar os padrões de diversidade fenotípica em *Leptodactylus*, com enfoque na caracterização acústica, e investigar os graus de associação/correlação entre caracteres acústicos e esses com tamanho corporal, além de revisar questões taxonômicas pertinentes relativas a esse táxon. Especificamente, esse capítulo teve como objetivos principais:

a) a caracterização detalhada das vocalizações de anúncio em *Leptodactylus*, com foco principal nos clados de *Leptodactylus fuscus* e *L. melanonotus*;

b) a investigação de padrões de diversidade críptica nesse táxon, reconhecidos em estudos anteriores;

c) a revisão das diagnoses e avaliação do *status* taxonômico de algumas espécies e de populações pouco estudadas, com enfoque nos clados *Leptodactylus fuscus* e *L. melanonotus*;

d) o estudo, através métodos comparativos filogenéticos, da evolução das vocalizações de anúncio em *Leptodactylus*.

3 METODOLOGIA

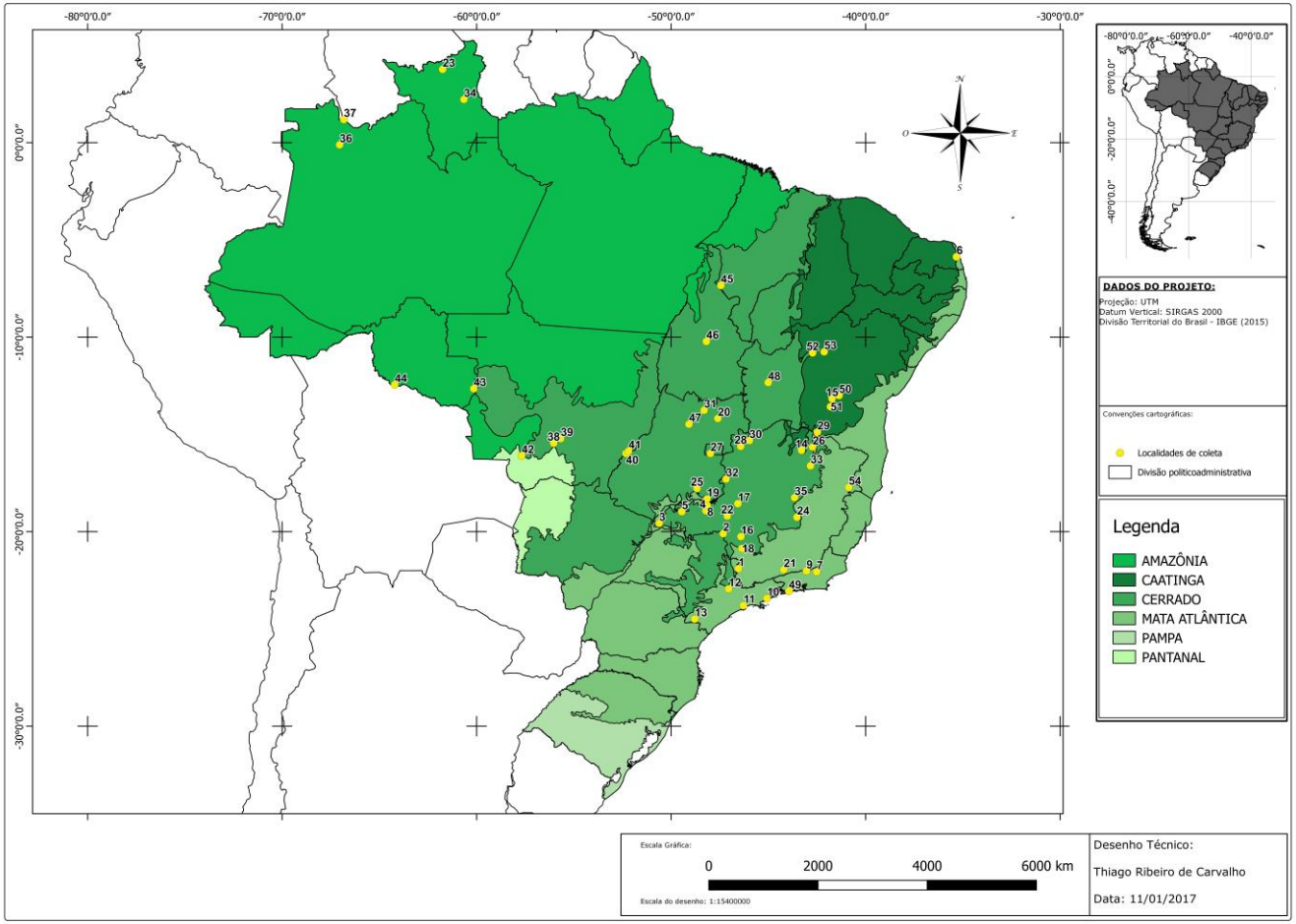
3.1 Localidades de coleta de dados em campo

Localidades (preferencialmente as localidades tipo) de ocorrência do maior número possível de espécies de *Leptodactylus* foram visitadas para a coleta de espécimes e gravações de suas vocalizações. A Figura 1 apresenta apenas as localidades visitadas em campo e de onde foi possível a associação entre morfótipos e padrões acústicos; espécimes examinados em coleções zoológicas estão listados no Apêndice A.

As localidades (município, estado) de coleta e as espécies correspondentes para os locais onde houve associação entre morfótipos e padrão acústico (números correspondentes às legendas da Figura 1) foram: 1 – Poços de Caldas, MG (*L. cunicularius*, *L. latrans*); 2 – Sacramento, MG (*L. cunicularius*); 3 – Limeira do Oeste, MG (*L. podicipinus*); 4 – Uberlândia, MG (*L. furnarius*, *L. fuscus*, *L. labyrinthicus*, *L. latrans*, *L. mystaceus*, *L. mystacinus*, *L. podicipinus*, *L. sertanejo*); 5 – Ituiutaba, MG (*L. fuscus*, *L. labyrinthicus*, *L. podicipinus*, *L. syphax*); 6 – Macaíba, RN (*L. caatingae*, *L. chaquensis*, *L. natalensis*); 7 – Duas Barras, RJ (*L.* cf. *mystaceus*); 8 – Araguari, MG (*L. chaquensis*, *L. furnarius*, *L. labyrinthicus*, *L. latrans*, *L. mystacinus*, *L. podicipinus*, *L. syphax*); 9 – Chiador, MG (*L. furnarius*); 10 – Ubatuba, SP (*L. latrans*); 11 – Paranapiacaba (distrito de Santo André)/Rio Grande da Serra, SP (*L. jolyi*); 12 – Campinas, SP (*L. labyrinthicus*, *L. mystaceus*, *L. mystacinus*); 13 – Apiaí, SP (*L. notoaktites*); 14 – Janaúba, MG (*L. troglodytes*); 15 – Piatã, BA (*L. macrosternum*, *L. mystacinus*, *L. oreomantis*); 16 – Parque Nacional da Serra da Canastra, São Roque de Minas, MG (*L. cunicularius*, *L. furnarius*, *L. fuscus*); 17 – Patos de Minas, MG (*L. cunicularius*); 18 – Alpinópolis, MG (*L. cunicularius*, *L. syphax*); 19 – Cumari, GO (*L. natalensis*); 20 – Alto Paraíso de Goiás, GO (*L.* aff. *cunicularius*, *L. mystaceus*, *L. syphax*, *L. tapiti*); 17 – Perdizes, MG (*A* cf. *hylaedactyla*); 18 – Caldas Novas, GO (*A* cf. *hylaedactyla*); 21 – Bom Jardim de Minas, MG (*L. cunicularius*); 22 – Estação de Pesquisa e Desenvolvimento Ambiental Galheiro, Perdizes, MG (*L.* aff. *cunicularius*, *L. mystaceus*); 23 – Serra do Tepequém, Amajari, RR (*L. validus*); 24 – Parque Nacional da Serra do Cipó, Jaboticatubas, MG (*L. camaquara*, *L. cunicularius*, *L. furnarius*, *L. sertanejo*); 25 – Parque Estadual da Serra de Caldas Novas, Caldas Novas, GO (*L.* aff. *cunicularius*, *L. furnarius*, *L. labyrinthicus*, *L. syphax*); 26 – Rio Pardo de Minas, MG (*L.* aff. *cunicularius*);

27 – Brasília, DF (*L.* aff. *cunicularius*); 28 – Buritis, MG (*L. furnarius*); 29 – Jacaraci, BA (*L.* aff. *cunicularius*); 30 – Parque Nacional Grande Sertão Veredas, Chapada Gaúcha/Formoso, MG (*L.* aff. *cunicularius*); 31 – Minaçu (*L. furnarius*); 32 – Paracatu (*L.* aff. *cunicularius*); 33 – Cristália/Grão-Mogol, MG (*L.* aff. *cunicularius*); 34 – Cantá, RR (*L. fuscus*, *L. longirostris*, *L. petersii*, *L. validus*); 35 – Diamantina, MG (*L.* aff. *cunicularius*); 36 – São Gabriel da Cachoeira, AM (*L. petersii*1); 37 – Cucuí (distrito de São Gabriel da Cachoeira), AM (*L. validus*); 38 – Cuiabá, MT (*L. petersii*2); 39 – Chapada dos Guimarães, MT (*L. petersii*2); 40 – Pontal do Araguaia, MT (*L. labyrinthicus*, *L. pustulatus*, *L. syphax*); 41 – Barra do Garças, MT (*L. labyrinthicus*, *L. mystaceus*, *L. petersii*2, *L. syphax*); 32 – Cáceres, MT (*L. elenae*, *L. fuscus*, *L. podicipinus*); 33 – Vilhena, RO (*L.* cf. *podicipinus*); 34 – Costa Marques (*L. chaquensis*, *L.* cf. *podicipinus*); 35 – Carolina, MA (*L. natalensis*); 36 – Palmas, TO (*L. syphax*); 37 – Uruaçu, GO (*L. natalensis*); 38 – São Desidério, BA (*L. furnarius*, *L. troglodytes*); 39 – Restinga de Marambaia, Rio de Janeiro, RJ (*L. marambaiae*); 40 – Mucugê, BA (*L. oreomantis*); 41 – Rio de Contas, BA (*L. oreomantis*); 42 – Xique-Xique, BA (*L. troglodytes*); 43 – Itaguaçu, BA (*L. podicipinus*); 44 – Carlos Chagas, MG (*L. viridis*).

Figura 1 – Localidades de coleta de *Leptodactylus*, para as quais há associação entre morfótipo e vocalização.



Fonte: elaborada pelo autor

3.2 Morfologia externa, morfometria e padrões de coloração: terminologia, coleta e análise de dados

Espécimes analisados estão depositados na Coleção de Anfíbios da Universidade Federal de Uberlândia (AAG-UFU), Museu de Biodiversidade do Cerrado, Uberlândia, Minas Gerais; Coleção de Anfíbios da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais; Coleção Herpetológica da Universidade Federal de Viçosa (MZUFV), Viçosa, Minas Gerais; Coleção de Anfíbios do Museu de Zoologia da Universidade Estadual de Campinas (ZUEC-AMP), Campinas, São Paulo; Coleção Célio Fernando Baptista Haddad (CFBH), Universidade Estadual Paulista (UNESP), Rio Claro, São Paulo; Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), São Paulo, capital; Museu Nacional do Rio de Janeiro (MNRJ), Rio de Janeiro, capital; Coleção Herpetológica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA-H), Manaus, Amazonas; Coleção Herpetológica da Universidade de Brasília (CHUNB), Brasília, Distrito Federal; Coleção Herpetológica da Universidade Federal do Rio Grande do Norte (AAGARDA), Natal, Rio Grande do Norte; Coleção Zoológica de Vertebrados da Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT-H); Coleção Herpetológica do Museu de Zoologia (QCAZ), Pontifícia Universidade Católica do Equador, Quito, Equador.

A análise dos caracteres morfológicos e de coloração seguiu basicamente as terminologias e definições para morfótipos para espécies de cada um desses clados, propostas essencialmente em Heyer (1978, 1994, 2005). Dez variáveis foram medidas de indivíduos adultos com paquímetro digital (precisão 0,01 mm): CRC (comprimento rostro-cloacal), CT (comprimento da tíbia), CP (comprimento do pé), CM (comprimento da mão), CC (comprimento da cabeça), LC (largura da cabeça), DO (diâmetro do olho), DT (diâmetro do tímpano), DON (distância olho-narina). A maioria das variáveis morfométricas foi medida de acordo com Heyer et al. (1990); duas variáveis (CC e LC) seguiram as definições de Duellman (1970); três variáveis (DO, DT e DON) seguiram as definições de Watters et al. (2016). Os espécimes analisados estão listados no Apêndice A.

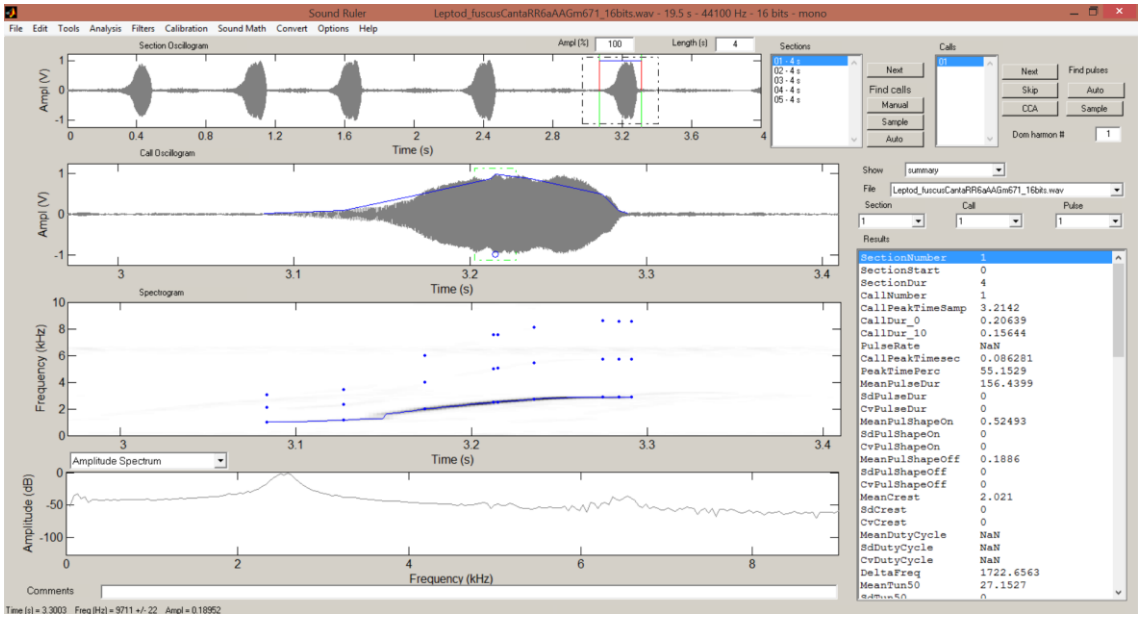
3.3 Bioacústica: conceitos, terminologia e procedimentos analíticos

A unidade “canto” em *Leptodactylus* foi definida através de um conceito mecanístico de produção de som, definido como um ciclo completo de expiração, sendo essas unidades homólogas do ponto de vista de produção de som no grupo taxonômico para fins comparativos (MCLISTER et al., 1995; ROBILLARD et al., 2006); “pulso” foi definido como resultante de modulações de amplitude particulares (correspondendes a modulações sinusoidais de frequência), em que a frequência do sinal pode ser associada a uma taxa pulsátil regular WATKINS, 1968). Apenas os sinais acústicos que compõem o canto de anúncio das espécies foram considerados nesse estudo. A despeito da variabilidade alta nos padrões de modulação de amplitude dos pulsos nos cantos de algumas espécies, eles foram classificados na definição de pulso descrita acima. Além disso, o padrão regular de modulação de amplitude em *Leptodactylus* pode ser completa ou incompleta, i.e. a modulação entre pulsos < 100%, incluindo vocalizações com modulações completas e incompletas ao longo do mesmo sinal acústico. As terminologias acústicas seguiram essencialmente as propostas por Cocroft e Ryan (1995), e Gerhardt e Huber (2002). Vide Tabela 1 para as variáveis acústicas consideradas e suas respectivas descrições.

As vocalizações foram analisadas em uma versão atualizada do programa Soundruler (GRIDI-PAPP, 2007) com interface no MATLAB 6.5.2 (MATLAB, 2004), de modo que fosse possível desenvolver programação de caracteres acústicos adicionais à versão disponível gratuitamente na internet (http://soundruler.sourceforge.net/main/), e para o desenvolvimento de procedimentos de automatização analítica através do reconhecimento e delineamento de características dos sinais acústicos sob análise (Figuras 2 e 3). As quantificações automatizadas no Soundruler podem ser acompanhadas através de objetos gráficos: uma linha azul delineando o envelope temporal do sinal acústico na janela do oscilograma (Figuras 2 e 3); outra linha azul mapeando as variações na frequência dominante ou outras frequências, pré-estabelecida nas configurações e delimitada por linhas verdes (contínuas e hachuradas como limites mínimo e máximo, respectivamente) na janela do espectrograma (Figuras 2 e 3); pontos azuis ao longo das modulações de amplitude do sinal acústico, i.e. pulsos, na janela do espectrograma, representando os picos de amplitude de cada um dos pulsos (Figura 3). Para as quantificações, o programa se utiliza de nove pontos de referência da amplitude do sinal: 1° ponto (0% de amplitude); 2° ponto (10% iniciais de amplitude); 3° ponto (50% iniciais de amplitude); 4° ponto (90% iniciais de amplitude); 5° ponto (pico de amplitude = 100%

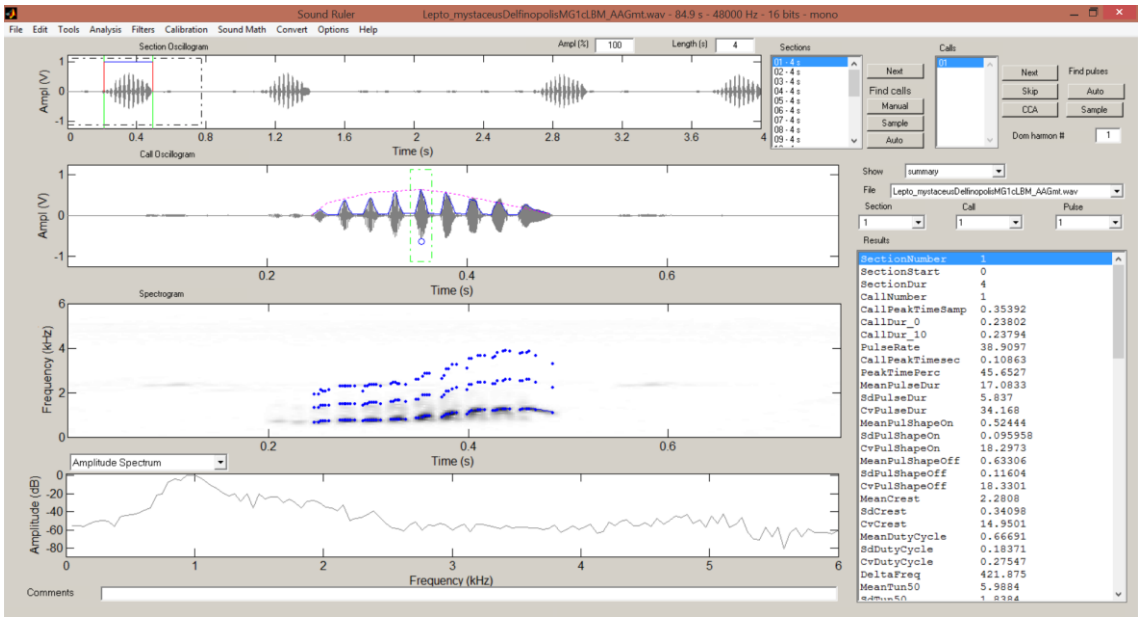
amplitude); 6° ponto (90% finais de amplitude); 7° ponto (50% finais de amplitude); 8° ponto (10% finais de amplitude); 9° ponto (0% de amplitude). Para uma visualização mais detalhada dos pontos de referência, é possível detectá-los na janela de zoom do oscilograma. As configurações de análise foram particulares para espécies, populações ou mesmo indivíduos, dependendo do nível de variabilidade das modulações na amplitude e frequência. Mesmo assim, foi feito um esforço para ajustar às configurações de análise para uma dada espécie, de modo que elas pudessem ser empregadas na maior parte das gravações analisadas dessa espécie. Com a exceção de cantos com duração muito curta e/ou modulações de frequências muito bruscas, as análises foram feitas com FFT de 1024 e 90% de sobreposição de janela. Nos casos de sinal acústico com duração muito curta e modulação de frequência muito súbita (p. ex., *L. leptodactyloides*), as configurações foram FFT de 512 e 99% de sobreposição de janela.

Figura 2 – Reconhecimento e quantificação automizadas das características do canto. De cima para baixo: oscilograma, espectrograma e espectro de amplitude de um sinal não pulsado de uma espécie de *Leptodactylus* (*L. fuscus*) no Soundruler. O delineamento do envelope do canto e da estrutura espectral é feito pelos contornos azuis. No oscilograma: o pico de amplitude do sinal é assinalado com um círculo vazio; no espectrograma: o rastreamento das frequências é feito por harmônicos (as duas barras verdes estão delimitando o harmônico que servirá de base para a frequência fundamental e/ou dominante).



Fonte: elaborada pelo autor

Figura 3 – Reconhecimento e quantificação automizadas das características do canto. De cima para baixo: oscilograma, espectrograma e espectro de amplitude de um sinal pulsado (sete pulsos) de uma espécie de *Leptodactylus* (*L. mystaceus*) no Soundruler. O delineamento do envelope do canto e pulso e da estrutura espectral é feito pelos contornos azuis. No oscilograma: o pico de amplitude do sinal é assinalado com um círculo vazio; no espectrograma: os picos de amplitude de cada pulso são assinalados com pontos azuis menores.



Fonte: elaborada pelo autor

Quando necessário, as gravações foram filtradas acima e/ou abaixo da frequência do sinal acústico de interesse. O critério de segurança das frequências de corte, para não se perder informações com a atenuação da amplitude nas faixas mínimas e máxima de frequência, foi sempre aplicar filtros pelo menos a bandas com corte na metade da frequência mínima do sinal (filtro passa-acima) ou bandas com corte no dobro da frequência máxima do sinal (filtro passa-abaixo). Vale ressaltar que filtros foram mais comumente aplicados a frequências muito baixas (filtro passa-acima com frequência de corte entre 80-100 Hz) apenas para a atenuação de ruído de fundo. A duração dos cantos foi medida de duas formas: a duração total foi medida do início ao fim do sinal através do oscilograma (0-0%); e a duração 10-10%, estipulada entre o intervalo entre os pontos de 10% iniciais e finais ao invés da duração total, pois as porções de baixa amplitude são as mais afetadas por ruído de fundo e podem ser mal delimitadas no oscilograma. A duração total também foi mantida, porque os sinais acústicos de algumas espécies de *Leptodactylus* têm porções de baixa amplitude no início e/ou fim deles. Os resultados da análise foram exportados em planilhas para cantos e pulsos, nas quais é possível acessar uma síntese das variáveis de interesse e uma série de outras quantificações não empregadas nesse estudo: posições absolutas para cada seleção e medida realizada nas gravações (em amostras), valores brutos de amplitude e frequência para cantos e pulsos, e configurações de análise. As figuras sonoras foram geradas no R, através do pacote seewave, versão 1.7.3 (SUEUR et al., 2008) com as configurações de 256 amostras (FFT), 85% de sobreposição (ovelap) e janela do tipo Hann.

Sinais acústicos das espécies de *Leptodactylus* foram analisados com base em gravações feitas em campo (acervo de gravações do Laboratório de Taxonomia, Sistemática e Evolução de Anuros Neotropicais, sob responsabilidade do Dr. Ariovaldo A. Giaretta), gravações cedidas por colaboradores e outros pesquisadores, além de acervo de gravações: gravações de *L. myersi*, *L. mystaceus*, *L. pentadactylus* do CD do guia sonoro de anfíbios da Guiana Francesa (MARTY; GAUCHER, 1999) foram incluídas nas análises (Tabelas 1-3). À parte as gravações obtidas em campo, muitos dados acústicos são oriundos do acervo do Museu de História Natural Smithsonian (USNM), Washington, D.C., cujas gravações foram analisadas e publicadas previamente por W. R. Heyer nas diversas contribuições a respeito do gênero. No texto, os nomes "*L. petersii*1-3" (Tabela 3) se referem, respectivamente, i) à espécie nominal *L. petersii* (topótipos); ii) às populações atribuídas ao sinônimo júnior de *L. petersii* da Chapada dos Guimarães, MT (*L. brevipes*; COPE, 1887); e iii) às populações

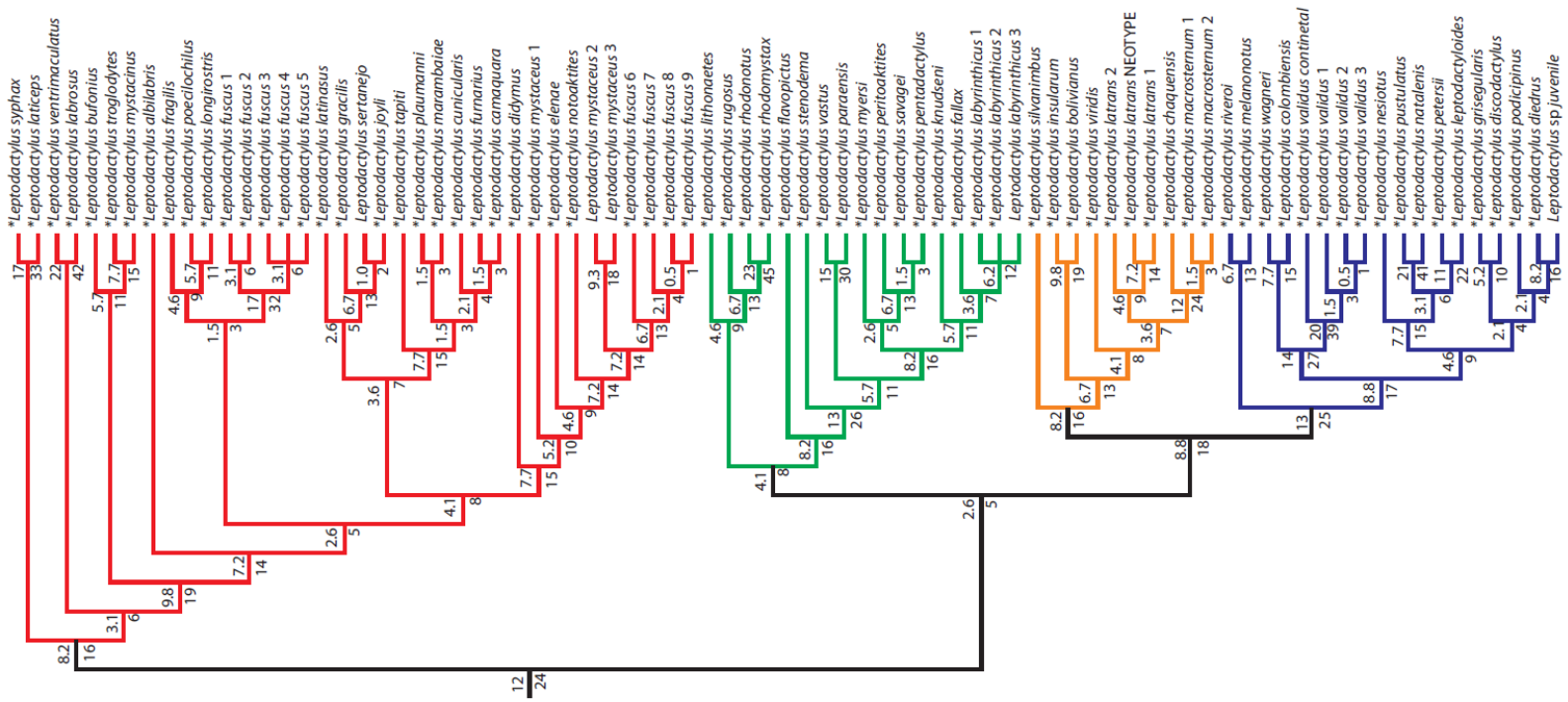
atribuídas ao sinônimo júnior de *L. petersii* de Manacapuru, AM (*L. intermedius*; LUTZ, 1930).

As associações dos padrões acústicos das gravações cedidas por W. R. Heyer aos seus respectivos morfótipos muitas vezes não foi possível, mesmo quando havia um espécime testemunho para as gravações, pois muitos espécimes estão tombados na coleção do Museu de História Natural Smithsonian (USNM). Em alguns casos, os testemunhos estavam tombados em coleções brasileiras (p. ex., INPA, Manaus; e ZUEC, Unicamp, Campinas), possibilitando as associações quando disponíveis para análise. Mesmo assim, as principais revisões dos grupos de *Leptodactylus* foram feitas por W. R. Heyer, o especialista que mais contribuiu para o conhecimento desse grupo, de modo que seja possível creditar confiança nas identificações desses espécimes de maneira geral. A aplicação de nomes de espécie com problemas nomenclaturais a algumas populações analisadas (p. ex., *L. latrans* e *L. macrosternum*) partiu de inferências a partir da proximidade geográfica de suas localidades tipo ou regiões historicamente atribuídas à distribuição delas (Figura 1), e foi feita de tal forma que fosse possível trabalhar operacionalmente com padrões acústicos e morfológicos distintos. Cabe a ressalva de que tanto a aplicação do nome quanto os seus respectivos padrões fenotípicos e distribuições geográficas são preliminares até que uma revisão circunstanciada dessas espécies seja conduzida. O repertório acústico de *L. chaquensis* (clado *L. latrans*) foi descrito com três tipos distintos de canto: “grunts”, “growls” e “trills” (HEYER; GIARETTA, 2009), mas apenas os cantos do tipo “trill” foram incluídos na Tabela 3.

Gravações de algumas espécies foram acessadas e seus padrões foram reconhecidos, mas não foi possível analisar quantitativamente seus cantos devido à baixa qualidade da gravação (p. ex., *L. riveroi*), principalmente pela baixa entrada de som e ruído de fundo. Por vezes, foi possível conduzir análises quantitativas, mas as quantificações foram restritas a poucos cantos ($N < 5$) de um indivíduo. Análises da variabilidade acústica foram conduzidas a partir das tendências centrais para as características acústicas (valores médios para as espécies), tentando associá-las a características qualitativas dos sinais acústicos. Com isso, as descrições e comparações acústicas se basearam apenas nas variáveis principais da análise (Tabelas 1 e 2). A reconstrução filogenética para o gênero (DE SÁ et al., 2014, p. S11) serviu como base para as comparações interespecíficas (Figura 4). Contudo, lá o clado formado por *L. syphax*+*L. laticeps* (espécies tradicionalmente associadas ao clado *L. pentadactylus*) foi recuperado como grupo irmão de todas as espécies historicamente associadas ao clado *L. fuscus*. Para manter o monofiletismo do clado *L. fuscus*, De Sá et al. (2014) propuseram que o

clado *L. fuscus* deveria acomodar essas espécies e essa árevore foi mantida para os métodos comparativos. Contudo, para as análises e comparações dentro dos clados *L. fuscus* e *L. pentadactylus* (redefinidos em De Sá et al., 2014), convencionou-se do ponto de vista operacional seguir a classificação histórica desses agrupamentos baseada principalmente na morfologia externa, osteologia e biologia reprodutiva (HEYER, 1969, 1978, 2005; PONSSA; 2008), na qual as espécies *L. syphax* e *L. laticeps* estariam agrupadas com o clado *L. pentadactylus*.

Figura 4 – Inter-relações de *Leptodactylus* baseadas na reconstrução filogenética disponível em De Sá et al. (2014). Vermelho: clado *L. fuscus* (incluindo *L. syphax*+*L. laticeps*); verde: clado *L. pentadactylus*; amarelo: clado *L. latrans*; azul: clado *L. melanonotus*.



Fonte: extraída de De Sá et al. (2014), p. S1.

Tabela 1 – Lista de caracteres acústicos analisados para espécies de Leptodactylinae através da análise automatizada implementada no programa Soundruler com interface em MATLAB. Caracteres ligados à amplitude foram obtidos nos oscilogramas; caracteres ligados à frequência foram obtidos nos espectrogramas e espectro de amplitude. As unidades abaixo são as unidades padrão do programa para esses parâmetros acústicos.

CARACTERES ACÚSTICOS	DESCRIÇÃO BREVE
Caracteres temporais (amplitude)	
Caracteres do canto	
Duração total do canto (s)	Duração de 0-0% da amplitude do sinal
Duração 10-10% do canto (s)	Duração entre os 10% iniciais e 10% finais da amplitude do sinal
Pico de amplitude (%)	Ponto relativo de amplitude máxima do sinal
Caracteres espectrais (frequência)	
Caracteres do canto	
Frequência dominante absoluta (Hz)	Frequência contendo a maior energia do sinal
Frequência fundamental (Hz)	Frequência mínima do sinal: 1° ponto de referência do sofware (0% de amplitude)
Modulação linear da frequência (Hz)	Diferença entre os 10% finais e iniciais do sinal (harmônico dominante)

Fonte: elaborada pelo autor

Tabela 2 – Tamanhos amostrais para vocalizações analisadas nesse estudo para as espécies do clado *Leptodactylus fuscus*: cantos de anúncio (Cantos), populações (Pop) e indivíduos (Ind); comprimento rostro-cloacal médio (machos adultos; CRC em mm) e sua respectiva referência. [1] Para as espécies com o anúncio formado por séries de cantos, o tamanho amostral se refere às séries (= anúncio). [2] Tratado como *L. geminus* nesse trabalho. * Inclui cantos da localidade tipo.

Espécie	Pop	Ind	Cantos	CRC	Fonte
L. albilabris*	2	2	82	35,2	Heyer (1978)
L. bufonius*	2	3	207	51,6	Heyer (1978)
L. caatingae	1	3	143	35,5	Heyer e Juncá (2003)
L. camaquara*	1	7	374	30,3	Sazima e Bokermann (1978)
L. cunicularius*[1]'	1	13	94	38,5	Presente estudo
***L. cupreus*[1]**	1	1	6	52,2	Cassini et al. (2013)
L. didymus*	2	6	490	49,3	Heyer et al. (1996)
L. elenae*	2	4	134	43,1	Heyer e Heyer (2002)
L. fragilis	2	2	77	34,8	Heyer et al. (2006)
L. furnarius	8	30	2706	36,5	Heyer e Heyer (2004)
L. fuscus	5	19	379	42,8	Heyer (1978)
L. gracilis	2	2	100	43,0	Heyer (1978)
L. jolyi*	1	3	119	45,1	Giaretta e Costa (2007)
L. labrosus*	1	1	37	54,6	Heyer (1978)
L. latinasus	2	2	197	31,2	Heyer (1978)
L. longirostris*	2	5	227	38,2	Heyer (1978)
L. marambaiae*	1	4	305	36,8	Heyer (1978)
L. mystaceus	8	23	896	47,4	Heyer et al. (1996)
L. mystacinus	4	9	546	54,1	Heyer e De Sá (2003)
L. notoaktites*	1	3	70	47,4	Heyer (1978)
***L. oreomantis*[1]**	3	4	95	31,2	Carvalho et al. (2013)
***L. plaumanni*[1]**	3	5	66	38,9	Kwet et al. (2001)[2]
L. poecilochilus	1	1	29	44,8	Heyer (1978)
L. sertanejo*	5	19	455	47,6	Presente estudo
L. spixi*	1	1	37	43,0	Heyer (1983); holótipo
L. tapiti*	1	8	1023	29,1	Presente estudo
L. troglodytes	4	5	639	48,8	Heyer (1978)

Fonte: elaborada pelo autor

Tabela 3 – Tamanhos amostrais para vocalizações analisadas nesse estudo para as espécies dos clados *Leptodactylus melanonotus*, *L. latrans* e *L. pentadactylus*, respectivamente: cantos de anúncio (Cantos), populações (Pop) e indivíduos (Ind); comprimento rostro-cloacal médio (machos adultos; CRC em mm) e sua respectiva referência. * Inclui cantos da localidade tipo.

Espécie	Pop	Ind	Cantos	CRC	Fonte
L. diedrus	1	1	53	40,3	Presente estudo
L. discodactylus	1	1	92	29,4	Presente estudo
L. griseigularis*	1	1	6	42,5	Heyer (1994)
L. leptodactyloides*	4	8	673	41,8	Presente estudo
L. melanonotus	1	1	6	30,7	Presente estudo
L. natalensis*	5	15	806	35,9	Presente estudo
L. petersii*1	1	3	304	28,4	Presente estudo
L. petersii*2	2	7	251	35,7	Presente estudo
L. podicipinus	6	10	263	34,0	Presente estudo
L. pustulatus	1	4	106	35,4	Fenólio et al. (2006)
L. sabanensis*	1	1	96	37,8	Heyer (1994)
L. validus	3	10	212	32,8	Presente estudo
L. wagneri*	1	1	13	53,3	Presente estudo
L. bolivianus	1	1	2	104,6	Heyer e De Sá (2011)
L. chaquensis[1]	1	1	6	78,5	Galvarro (2015)
L. insularum	1	1	41	86,8	Heyer e De Sá (2011)
L. latrans	1	5	64	114,9	Presente estudo
L. macrosternum	1	2	14	82,8	Presente estudo
L. silvanimbus*	1	1	22	45,9	Heyer et al. (2002)
L. viridis	1	1	17	63,35	Presente estudo
L. flavopictus	1	1	9	123,2	Heyer (1979)
L. knudseni	2	2	47	131,4	Heyer (2005)
L. labyrinthicus	7	28	754	149,6	Heyer (2005)
L. laticeps	1	1	38	97,7	Heyer (1979)
L. myersi	1	1	10	101,0	Heyer (2005)
L. pentadactylus	2	2	19	140,8	Heyer (1979)
L. peritoaktites*	1	1	3	132,4	Heyer (2005)
L. rhodomystax	1	1	6	80,2	Heyer (1979)
L. rhodonotus*	1	2	93	67,8	Heyer (1979)
L. rugosus	1	1	6	57,6	Heyer e Thompson (2000)
L. savagei*	1	2	83	133,2	Heyer (2005)
L. stenodema	1	1	16	89,9	Heyer (1979)
L. syphax	8	12	160	72,5	Heyer e De Sá (2010)
L. vastus	4	6	246	156,0	Heyer (2005)

Fonte: elaborada pelo autor

3.4 Métodos Comparativos Filogenéticos (MCFs)

Os métodos comparativos filogenéticos (MCFs) para *Leptodactylus* foram aplicados às mesmas inter-relações da reconstrução filogenética por evidência total em De Sá et al. (2014). As inter-relações (Figura 4) foram exportadas do programa Mesquite, versão 3.04 (MADDISON; MADDISON, 2015), e os comprimentos de ramos foram gerados artificialmente no pacote ape através do método proposto por Grafen (1989), uma vez que a reconstrução para *Leptodactylus* foi otimizada por critério de parcimônia.

Todos os MCFs foram implementados no programa R (64 bits), versão 3.2.2 (R CORE TEAM, 2015). Seis variáveis acústicas foram selecionadas para a exploração dos MCFs a partir dos resultados das análises acústicas para as espécies da topologia (Tabelas 4-6): duração do canto, pico relativo de amplitude, modulação linear de frequência, frequência dominante e frequência fundamental. Primeiramente, o sinal filogenético de dados contínuos foi avaliado através de uma abordagem multivariada, através do parâmetro multivariado K_{mult} sob o modelo evolutivo Browniano, como implementado por Adams (2014). O sinal filogenético de dados contínuos (dados acústicos e CRC) também foi estimado para variáveis através do parâmetro estatístico K (BLOMBERG et al., 2003) e lambda (PAGEL, 1999) no pacote phytools, versão 0.5-64 (REVELL, 2012), em interface com os pacotes ape, versão 4.0 (PARADIS et al., 2004); geiger, versão 2.0.6 (HARMON et al., 2008). Foram geradas mil simulações para os testes de randomização (BLOMBERG et al., 2003). O sinal filogenético de dados discretos foi avaliado pelo método de aleatorização de topologias, implementado por Maddison e Slatkin (1991), otimizado no R em interface com os pacotes ape, geiger, phangorn, versão 2.1.1 (SCHLIEP, 2011), e phylobase, versão 0.8.2 (HACKATHON et al., 2016).

Regressões filogenéticas entre caracteres acústicos contínuos e entre esses e tamanho (CRC) foram conduzidas com os dados logaritmizados através de modelos lineares generalizados levando em conta a não-independência entre os terminais: função ‘pgls’ do pacote caper, versão 0.5.2 (ORME et al., 2013), com transformação dos comprimentos de ramo otimizados por máxima verossimilhança. O método implementado foi descrito por Freckleton et al. (2002).

Dois modelos evolutivos foram testados para explorar os processos evolutivos dos caracteres contínuos na topologia: modelo browniano (BM) e modelo de Ornstein-Uhlenbeck (O-U). O modelo BM sob o pressuposto de mudanças aleatórias (evolução neutra), enquanto o

O-U sob uma seleção estabilizadora (pressões seletivas e *constraints* biológicos). Para dados discretos (pulsos: presente vs. ausente), dois modelos evolutivos foram utilizados: ER (*equal-rates model*) e ARD (*all-rates-differerent model*), ambos com taxas constantes de evolução em cada ramo da topologia, mas com taxas evolutivas iguais (ER) ou diferentes (ARD) entre os ramos da topologia. Esses modelos foram implementados no pacote geiger. O melhor modelo evolutivo, tanto para dados discretos (modelos ER e ARD) quanto para dados contínuos (modelos BM e O-U), foi avaliado através de um teste qui-quadrado dos estimadores de máxima verossimilhança dos modelos (lnL; I.C. = 95%). Os estimadores de máxima verossimilhança (lnL), critérios de informação Akaike (ACC) e corrigido (AICc) foram utilizados como parâmetros comparativos dos modelos evolutivos testados.

4 RESULTADOS

4.1 Caracterização acústica das espécies

Esta seção apresenta uma síntese dos padrões acústicos reconhecidos para cada um dos clados de *Leptodactylus*. Para facilitar a visualização de padrões e comparações interespecíficas, algumas características das vocalizações foram categorizadas: i) modulação de amplitude (pulsado vs. não pulsado); ii) modulação linear de frequência (sutil ou irrisória: até 500 Hz de modulação positiva; moderada: 500-1000 Hz de modulação positiva; acentuada: > 1000 Hz de modulação positiva); iii) duração do canto (longo: $\geq$ 100 ms; curto: < 100); iv) frequência dominante (alta: > 1,5 kHz; baixa $\leq$ 1,5 kHz).

No clado *L. fuscus* (Tabela 4), apenas uma (*L. ventrimaculatus*) das vinte oito espécies descritas não tem vocalização conhecida, mas parece ser semelhante ao padrão acústico descrito para *L. labrosus*, a sua espécie irmã (Santiago Ron, informação pessoal). Nesse clado, vários padrões acústicos foram reconhecidos.

Tabela 4 – Síntese das principais variáveis acústicas (valores médios para as espécies) para o clado *Leptodactylus fuscus*. Duração do canto (CD); pico relativo de amplitude do canto (PA); modulação linear de frequência (MLF); frequência dominante (FD); frequência fundamental (FF).

Espécie	DC (ms)	PA (%)	MLF (Hz)	FD (Hz)	FF (Hz)
L. albilabris	36,9	31,9	1445	2919	1437
L. bufonius	147,2	54,6	421	1612	1308
L. caatingae	62,3	57,7	204	1315	1148
L. camaquara	181,1	72,0	239	2446	2237
L. cunicularius	1822,9	66,9	203	2575	2411
L. cupreus	2460,5	77,2	230	2878	2641
L. didymus	108,3	68,7	526	1109	706
L. elenae	215,3	80,4	541	1399	894
L. fragilis	158,0	85,1	882	1736	1012
L. furnarius	38,9	39,3	176	3070	2954
L. fuscus	262,2	72,5	1607	2482	934
L. gracilis	45,9	50,4	1132	1671	1036
L. jolyi	36,5	40,7	1351	1906	1103
L. labrosus	117,5	51,6	37	408	169
L. latinasus	63,2	23,5	414	3301	3173
L. longirostris	55,2	52,6	1571	2607	1099
L. marambaiae	18,6	33,8	119	3299	3192
L. mystaceus	194,0	63,7	498	1253	814
L. mystacinus	43,9	35,8	58	2270	2220
L. notoaktites	109,1	47,8	1144	1492	736
L. oreomantis	2597,1	82,0	200	2945	2830
L. plaumanni	1738,6	82,3	288	2774	2523
L. poecilochilus	25,5	66,6	202	982	844
L. sertanejo	36,9	52,1	1209	2077	1036
L. spixi	94,0	61,6	738	1308	645
L. tapiti	36,1	38,4	208	3330	3245
L. troglodytes	30,4	25,3	375	3001	2875

Fonte: elaborada pelo autor

Tabela 5 – Síntese das principais variáveis acústicas (valores médios para as espécies) para os clados *Leptodactylus melanonotus—Leptodactylus latrans*. Duração total do canto (CD); pico relativo de amplitude do canto (PA); modulação linear de frequência (MLF); frequência dominante (FD); frequência fundamental (FF).

Espécie	DC (ms)	PA (%)	MLF (Hz)	FD (Hz)	FF (Hz)
L. diedrus	177,0	49,6	103	884	721
L. discodactylus	155,2	52,8	1314	2512	1379
L. griseigularis	17,4	46,0	136	2814	2670
L. leptodactyloides	23,2	31,0	496	1273	896
L. melanonotus	42,4	0,0	1077	2232	1104
L. natalensis	19,6	61,5	449	928	775
***L. petersii*1**	41,0	38,7	96	1092	979
***L. petersii*2**	14,7	30,3	1361	1565	1791
L. podicipinus	44,4	62,0	922	1679	1012
L. pustulatus	49,6	38,9	1281	2971	1722
L. sabanensis	88,7	46,4	977	1740	676
L. validus	177,0	49,6	103	884	721
L. wagneri	155,2	52,8	1314	2512	1379
L. bolivianus	145,7	44,7	366	668	301
L. chaquensis	594,4	70,3	72	481	323
L. insularum	108,6	52,6	814	1184	427
L. latrans	166,9	48,5	137	325	201
L. macrosternum	180,9	50,4	223	365	219
L. silvanimbus	162,0	28,7	12	1169	493
L. viridis	25,0	46,8	1453	492	492

Fonte: elaborada pelo autor

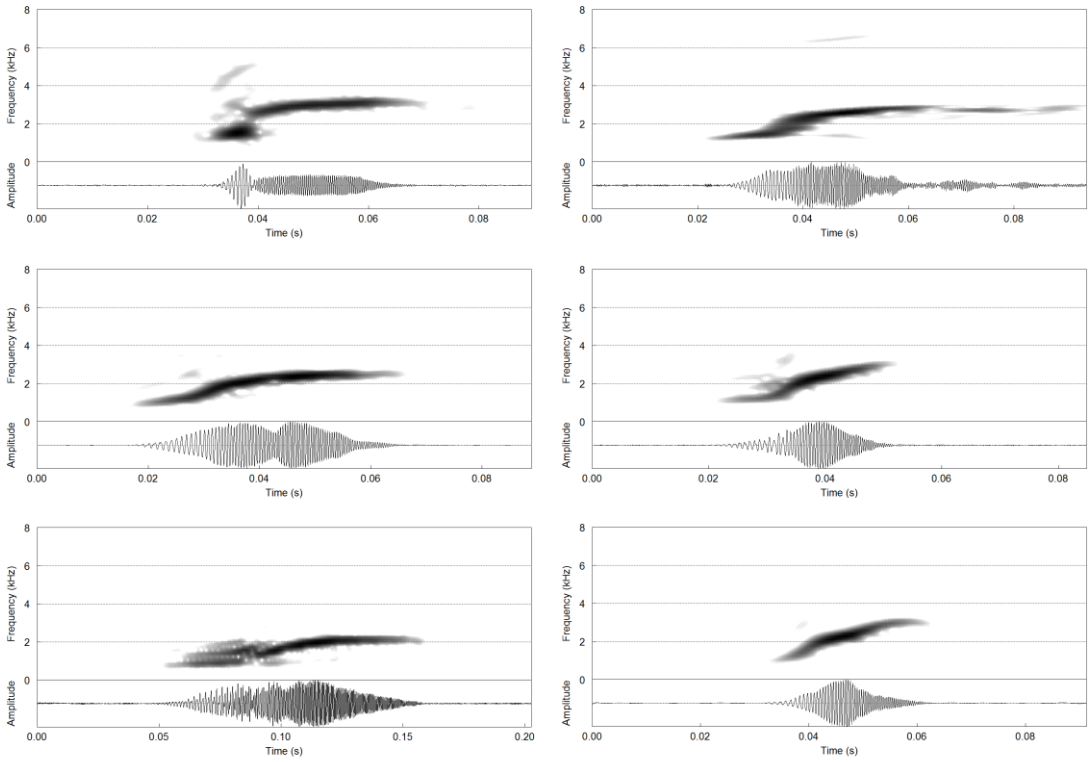
Tabela 6 – Síntese das principais variáveis acústicas (valores médios para as espécies) para os clados *Leptodactylus pentadactylus*. Duração do canto (CD); pico relativo de amplitude do canto (PA); modulação linear de frequência (MLF); frequência dominante (FD); frequência fundamental (FF).

Espécie	DC (ms)	PA (%)	MLF (Hz)	FD (Hz)	FF (Hz)
L. flavopictus	50,3	52,2	96	620	510
L. knudseni	263,2	44,7	258	580	366
L. labyrinthicus	193,6	36,7	169	397	271
L. laticeps	161,7	55,7	247	972	819
L. myersi	334,7	73,8	133	668	310
L. pentadactylus	197,4	48,7	274	715	493
L. peritoaktites	194,0	46,9	287	854	696
L. rhodomystax	197,1	29,4	1019	2283	1357
L. rhodonotus	58,0	39,0	312	2271	2000
L. rugosus	728,1	26,7	1816	1888	517
L. savagei	303,3	30,5	170	405	399
L. stenodema	199,6	53,4	308	870	594
L. syphax	78,3	47,9	1329	1713	620
L. vastus	177,7	37,6	168	390	265

Fonte: elaborada pelo autor.

As espécies *L. albilabris*, *L. gracilis*, *L. jolyi*, *L. longirostris* e *L. sertanejo* (Tabela 4; Figura 5) possuem o canto de anúncio curto, não pulsado, e com modulação acentuada na frequência, que é bem marcada na primeira metade do sinal. A modulação às vezes é tão intensa e súbita a ponto de ser possível observar uma inflexão na estrutura espectral, seguida por uma modulação ascendente constante até o fim do sinal ou terminar em um platô de frequência constante na porção final. Esse padrão acústico dá à estrutura espectral um formato arqueado ou de "S" característico.

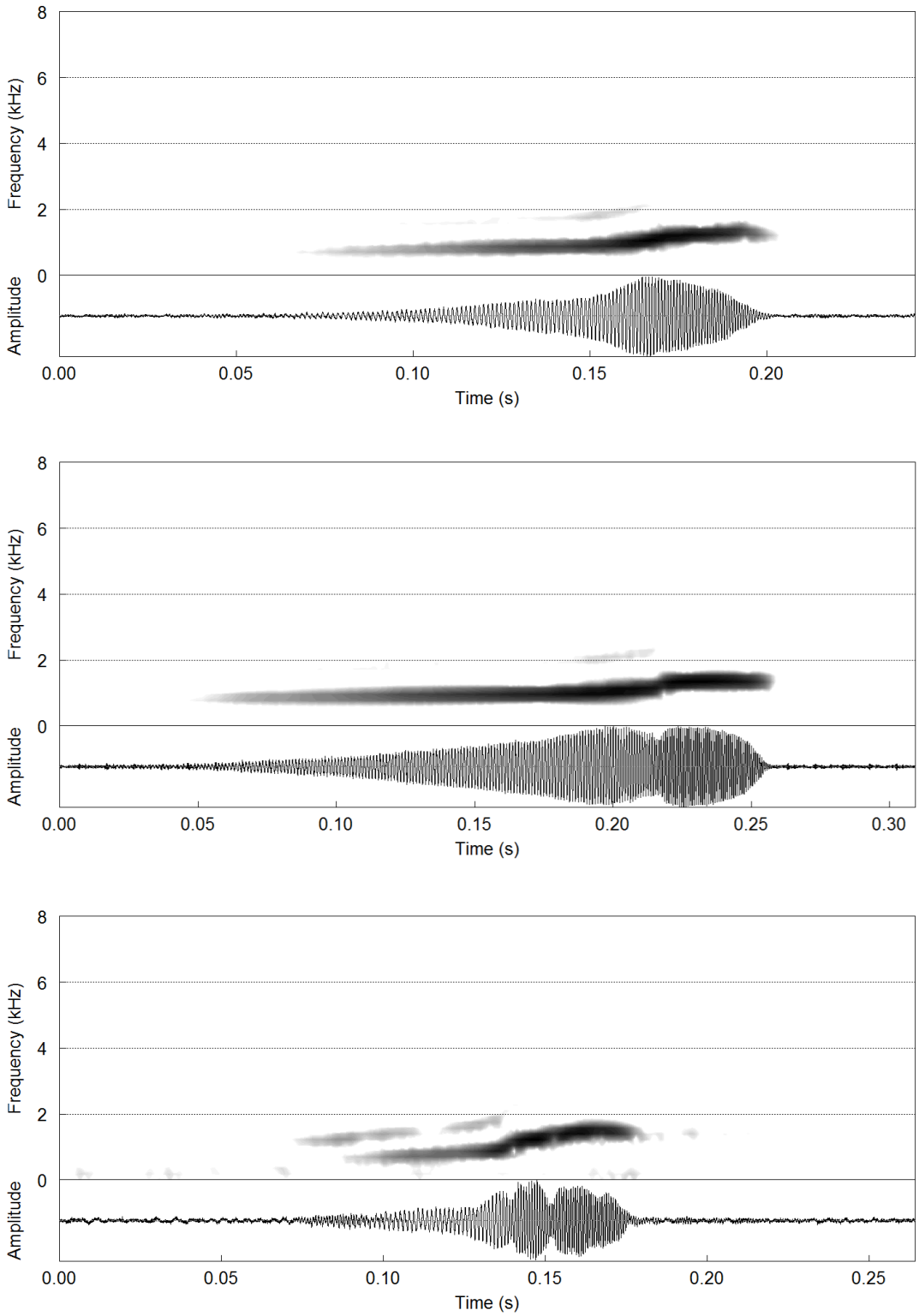
Figura 5 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de (da esquerda para a direita): *L. albilabris* (República Dominicana) e *L. gracilis* (Bagé, RS) na fileira superior; *L. jolyi* (Rio Grande da Serra, SP) e *L. longirostris* (Cantá, RR) na fileira intermediária; *L. notoaktites* (Apiaí, SP) e *L. sertanejo* (Uberlândia, MG) na fileira inferior.



Fonte: Elaborada pelo autor

Leptodactylus didymus, *L. elenae*, *L. notoaktites* e *L. spixi* (Tabela 4; Figuras 5 e 6) compartilham o canto de anúncio longo (> 100 ms), não pulsado e com modulação de moderada a acentuada na frequência. O comportamento da frequência pode ser ligeiramente ascendente nos primeiros 2/3 do sinal, seguido de pronunciada modulação ascendente na porção final (Figura 6), ou apresentar uma modulação acentuada na primeira metade do sinal. A magnitude da modulação linear de frequência e a duração do sinal variaram notavelmente: *L. elenae* apresentou a duração média do seu canto muito maior do que das outras espécies (Tabela 4), enquanto o único indivíduo analisado de *L. spixi* teve valores inferiores, mas próximos, da categoria de sinal longo (> 100 ms; Tabela 4); a modulação de frequência foi mais marcada em *L. notoaktites* em comparação com as outras espécies.

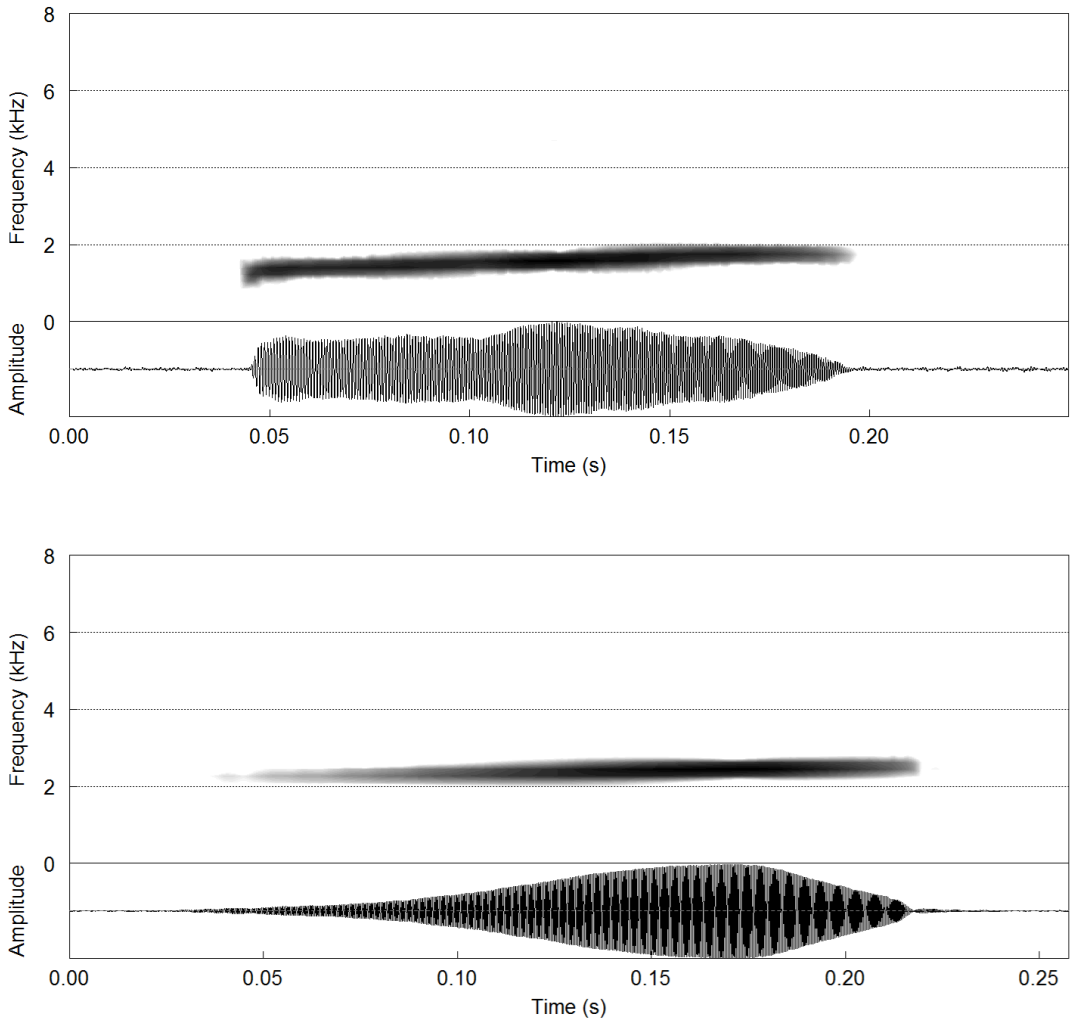
Figura 6 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de *Leptodactylus didymus* (Peru), *L. elenae* (Cáceres, MT) e *L. spixi* (Guaratiba, RJ), respectivamente.



Fonte: Elaborada pelo autor

Os cantos de anúncio de *Leptodactylus bufonius* e *L. camaquara* têm longa duração (> 100 ms), pulsos ausentes, e com modulação ascendente sutil (< 500 Hz) e regular na frequência ao longo do sinal (Tabela 4; Figura 7).

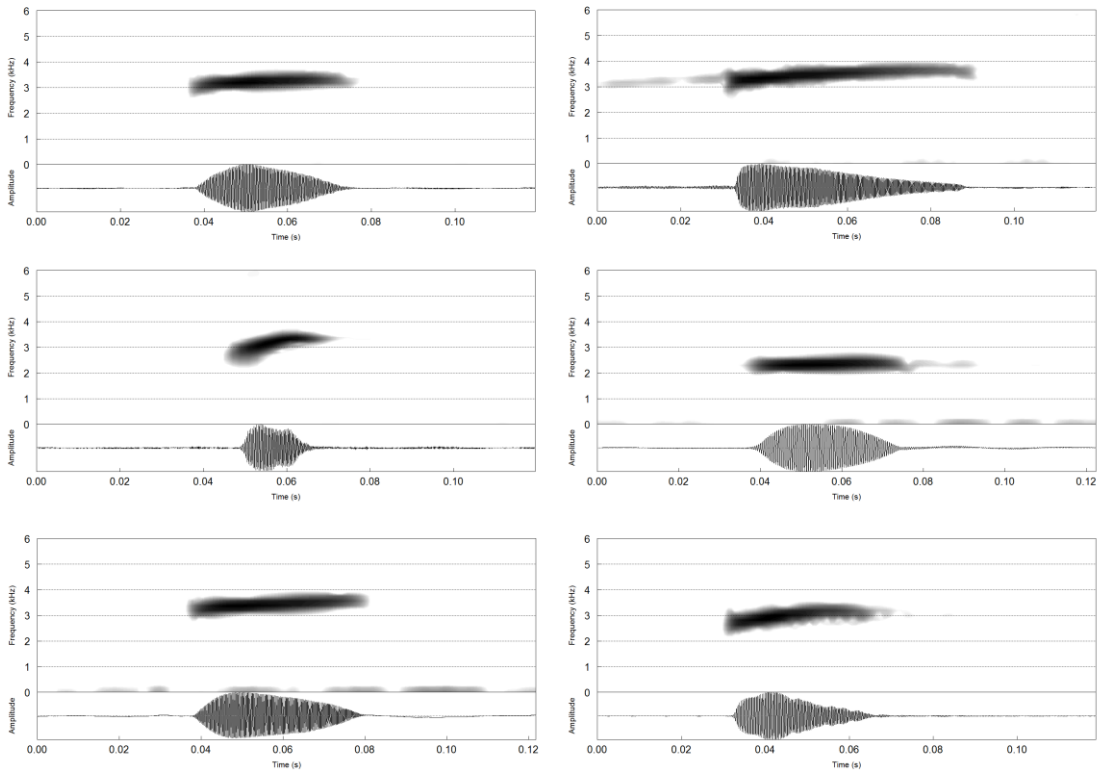
Figura 7 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de *Leptodactylus bufonius* (Argentina) e *L. camaquara* (Serra do Cipó, MG), respectivamente.



Fonte: Elaborada pelo autor

Leptodactylus furnarius, *L. latinasus*, *L. marambaiae*, *L. mystacinus*, *L. poecilochilus*, *L. tapiti* e *L. troglodytes* compartilham o seguinte padrão acústico: canto curto (< 100 ms), não pulsado e com modulação sutil (< 500 Hz) na frequência (Figura 8). Entre essas espécies, *L. latinasus* apresenta maiores valores para a duração do canto e para a modulação de frequência, enquanto *L. marambaiae* e *L. mystacinus* apresentaram os menores valores para a duração e modulação, respectivamente (Tabela 4). A frequência dominante do canto de *L. poecilochilus* é muito mais baixa (<. 1,0 kHz em média; Figura 9) do que a dos cantos das outras espécies (> 2,0 kHz).

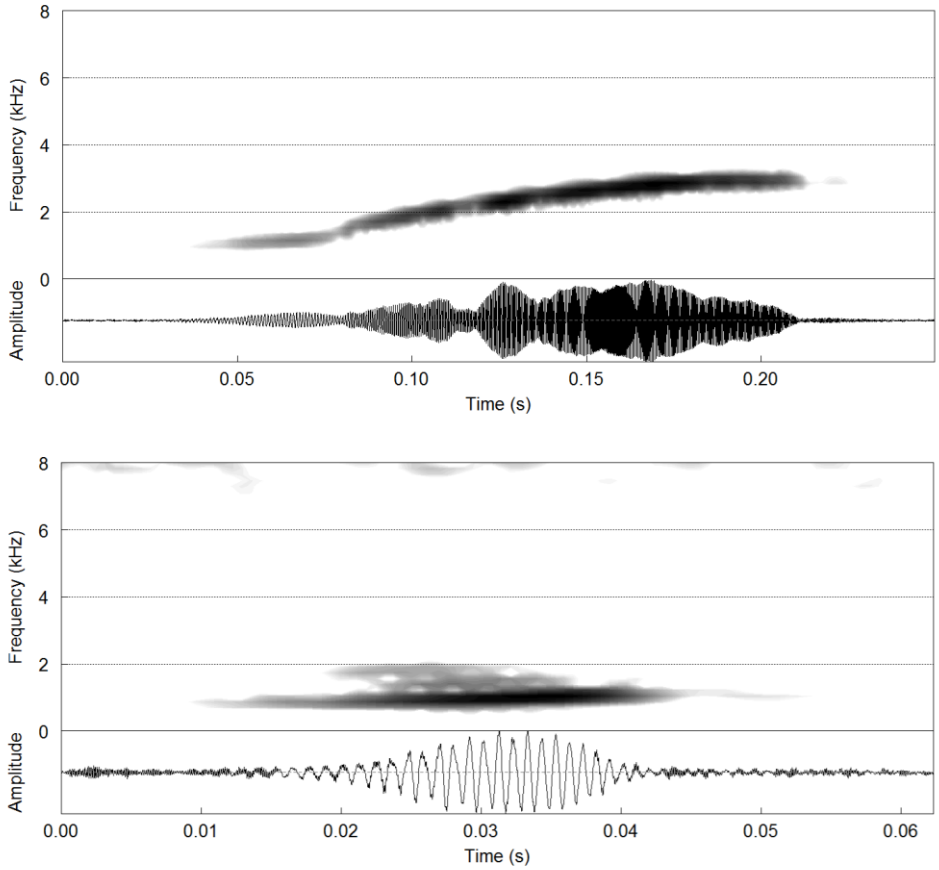
Figura 8 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de (da esquerda para a direita) *Leptodactylus furnarius* (Uberlândia, MG) e *L. latinasus* (Bagé, RS) na fileira superior; *L. marambaiae* (Marambaia, RJ) e *L. mystacinus* (Uberlândia, MG) na fileira intermediária; *L. tapiti* (Alto Paraíso de Goiás, GO) e *L. troglodytes* (Janaúba, MG) na fileira inferior..



Fonte: Elaborada pelo autor

Leptodactylus fuscus possui um padrão acústico muito particular no clado e no gênero *Leptodactylus*, sendo facilmente reconhecido de ouvido como um assobio. O canto de anúncio é o mais longo no clado (> 250 ms em média), não pulsado, e com modulação de frequência ascendente muito pronunciada (> 1000 Hz) ao longo de todo o sinal essencialmente (Figura 9;). Logo após o início da emissão, há uma modulação ascendente muito acentuada e súbita, sendo possível observar um ponto de inflexão em sua estrutura espectral. A modulação ascendente é sustentada até o fim do sinal, dando um aspecto arqueado à estrutura espectral. Embora haja vocalizações de outras espécies do clado nesse padrão (sinal longo, não pulsado e com modulação de frequência ascendente acentuada), os valores de duração do sinal (> 300 ms) e modulação de frequência (> 2000 Hz) são maiores em *L. fuscus* do que em qualquer outra espécie do clado (Tabela 4; Figura 9).

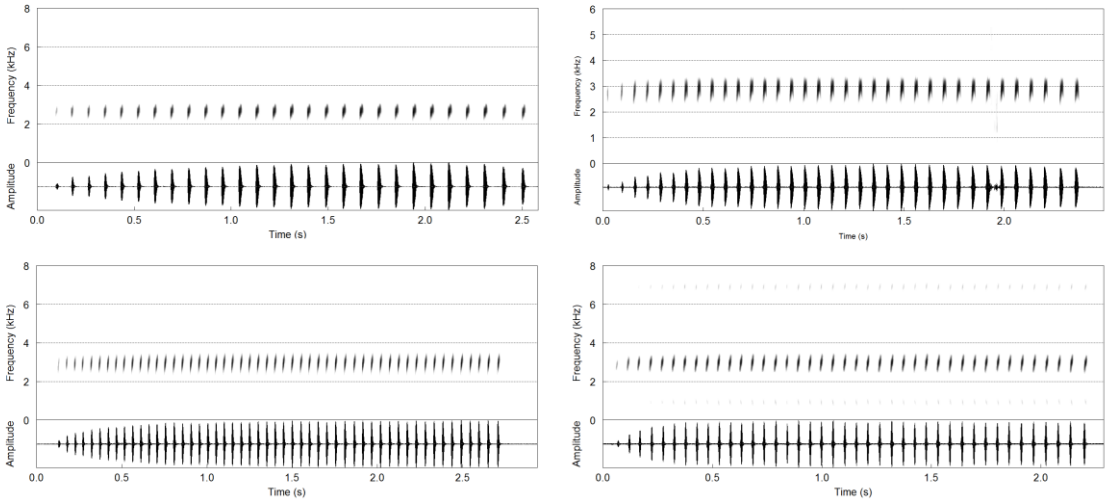
Figura 9 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de *Leptodactylus fuscus* (Costa Marques, RO) e *L. poecilochilus* (Venezuela), respectivamente.



Fonte: Elaborada pelo autor

Leptodactylus cunicularius, *L. cupreus*, *L. oreomantis* e *L. plaumanni* possuem o canto de anúncio (Tabela 4; Figura 10) que consiste em uma série de notas curtas e iguais entre si estruturalmente, não pulsadas e com modulação de frequência sutil ou irrisória, semelhante ao trinado de algumas aves. Esse padrão acústico trinado é peculiar quanto à forma distinta de emissão das notas em séries bem definidas. As sub-unidades do anúncio, referidas aqui como notas, são similares ou idênticas ao envelope temporal e características espectrais dos cantos das espécies da Figura 8.

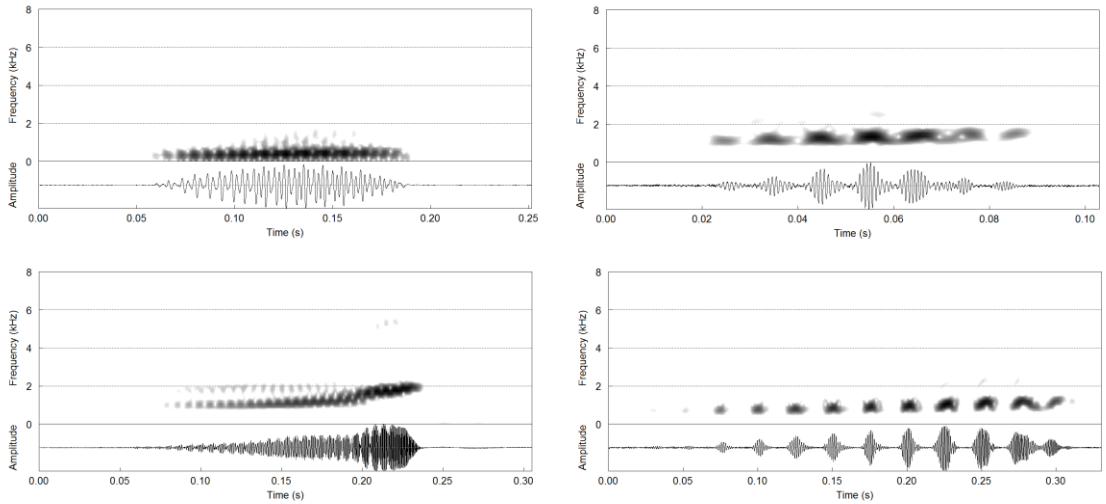
Figura 10 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de (da esquerda para a direita) *Leptodactylus cunicularius* (Serra do Cipó, MG) e *L. cupreus* (Ilhéus, BA) na fileira superior; *L. oreomantis* (Rio de Contas, BA) e *L. plaumanni* (Francisco Beltrão, PR) na fileira inferior.



Fonte: Elaborada pelo autor

Leptodactylus labrosus tem um canto longo (> 100 ms), não pulsado e com frequência essencialmente uniforme ao longo da duração do sinal (Tabela 4; Figura 11). A frequência dominante dessa espécie é muito mais baixa (< 500 Hz) do que em qualquer outra espécie do clado (Tabela 4). A vocalização de anúncio de *Leptodactylus caatingae* consiste em um canto curto (< 100 ms), pulsado e com modulação de frequência sutil ou irrisória (Tabela 4; Figura 11). Os pulsos são completos no início das notas (i.e., 100% modulação entre pulsos), mas o intervalo entre os pulsos tende a desaparecer na metade final (modulação < 100%). A vocalização dessa espécie possui frequência dominante relativamente baixa para o clado (~ 1,3 kHz). *Leptodactylus fragilis* possui o canto de anúncio longo (> 100 ms), pulsado e com modulação frequência moderada, sendo que se apresenta ligeiramente ascendente nos primeiros 2/3 de duração do sinal, seguidos de modulação pronunciada na porção final (Tabela 4; Figura 11). Os pulsos são incompletos nessa espécie. O canto de anúncio de *Leptodactylus mystaceus* consiste em um canto longo (> 100 ms), pulsado e com modulação de frequência sutil (Tabela 4; Figura 11). A vocalização possui pulsos completos nessa espécie e a frequência dominante é relativamente baixa para o clado (~ 1,3 kHz).

Figura 11 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de (da esquerda para a direita) *Leptodactylus labrosus* (Equador) e *L. caatingae* (Macaíba, RN) na fileira superior; *L. fragilis* (Venezuela) e *L. mystaceus* (Uberlândia, MG) na fileira inferior.

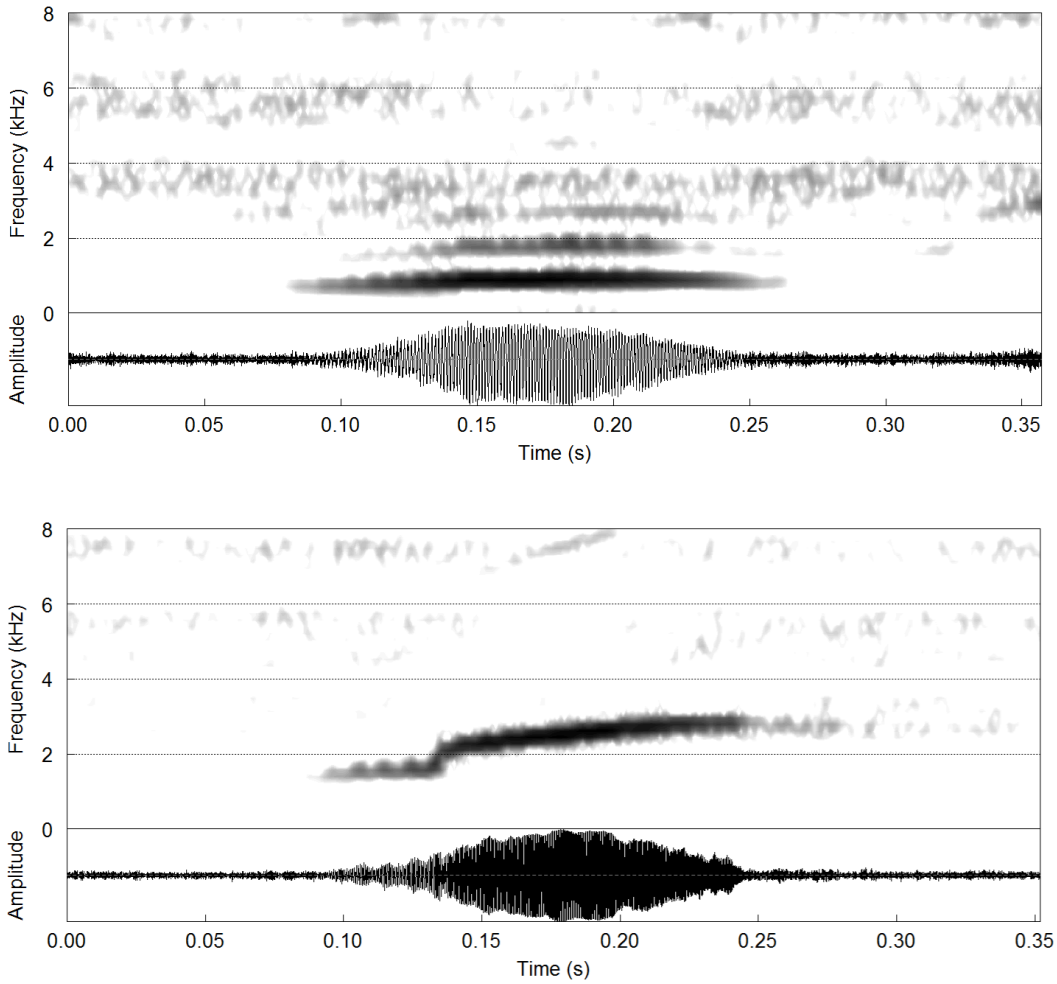


Fonte: Elaborada pelo autor

No clado *L. melanonotus* (Tabela 5), algumas espécies ainda não têm vocalização conhecida (*L. colombiensis*, *L. magistris* e *L. pascoensis*). Nesse clado, alguns padrões acústicos foram detectados, mas uma estrutura acústica comum é compartilhada para a maioria das espécies, com diferenças quantitativas mais marcadas nos parâmetros de duração do sinal, modulação linear de frequência e frequência dominante. Para facilitar o reconhecimento de padrões e comparações interespecíficas, algumas características das vocalizações foram categorizadas: i) modulação de amplitude (pulsado vs. não pulsado); ii) modulação linear de frequência (sutil ou irrisória: até 500 Hz de modulação positiva; moderada: 500-1000 Hz de modulação positiva; acentuada: > 1000 Hz de modulação positiva); iii) duração do canto (longo: $\geq$ 100 ms; curto: < 100); iv) frequência dominante (alta: > 1,5 kHz; baixa $\leq$ 1,5 kHz). Segue abaixo uma síntese dos padrões acústicos nesse clado.

Leptodactylus diedrus possui o canto de anúncio longo (> 100 ms), não pulsado e com modulação de frequência sutil ou imperceptível (Figura 12). *Leptodactylus discodactylus* também possui um canto longo (> 100 ms) e não pulsado, porém com modulação acentuada de frequência (> 1000 Hz). O canto de anúncio nessa espécie pode ser descrito como um assobio longo, agudo e modulado (Tabela 5; Figura 12).

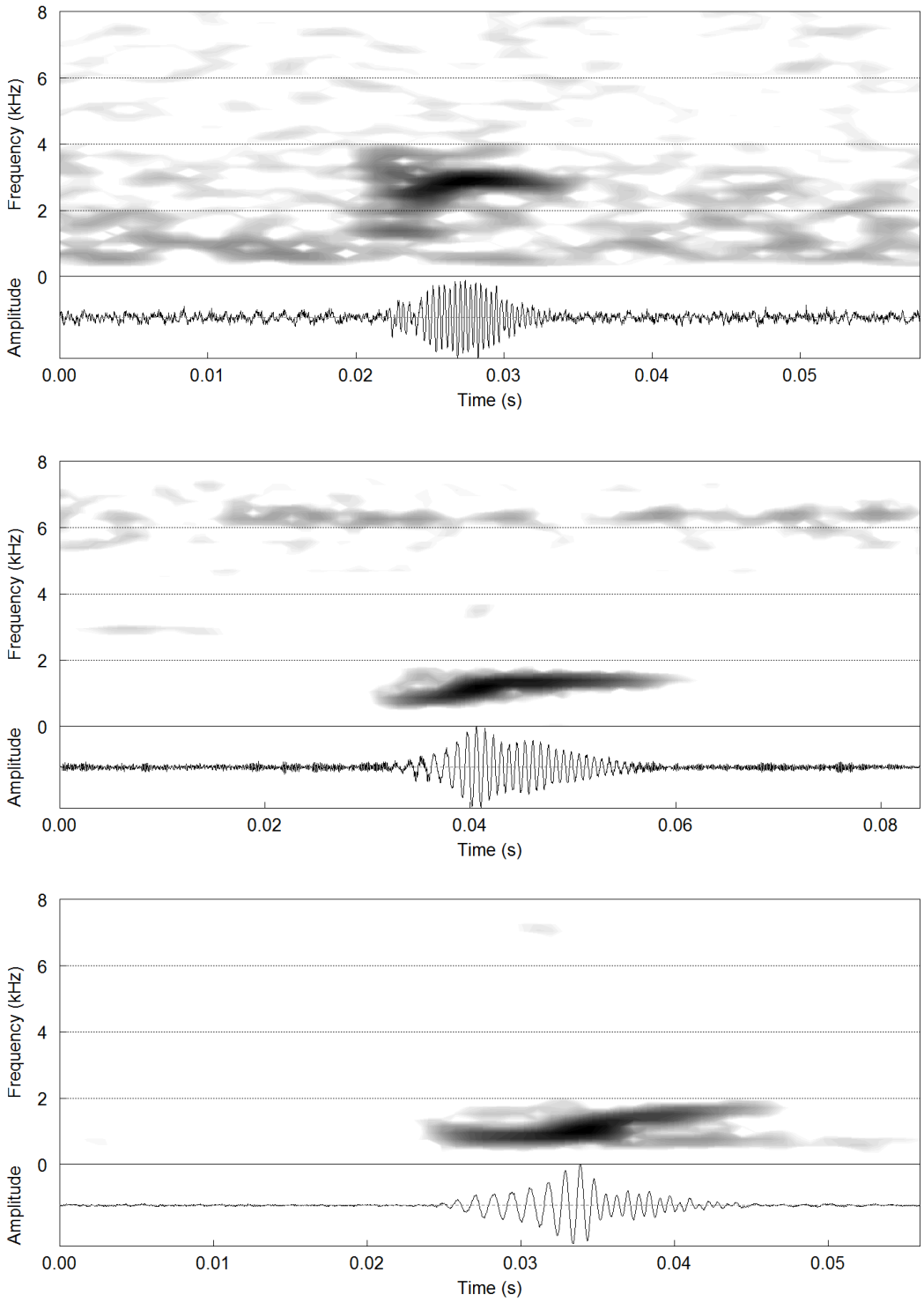
Figura 12 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de *Leptodactylus diedrus* (Juruá, AM) e *L. discodactylus* (Juruá, AM), respectivamente.



Fonte: Elaborada pelo autor

Leptodactylus griseigularis, *L. leptodactyloides* e *L. natalensis* possuem o seus cantos de anúncio muito curtos (< 25 ms em média) e não pulsados (Tabela 5; Figura 13). As três espécies podem ser separadas acusticamente através da frequência dominante de seus cantos: em média, frequência alta (> 2,5 kHz), baixa (~ 1,3 kHz) e muito baixa (< 1,0 kHz), respectivamente. Além disso, a modulação de frequência foi similar em *L. leptodactyloides* e *L. natalensis*, mas muito menor *L. griseigularis*.

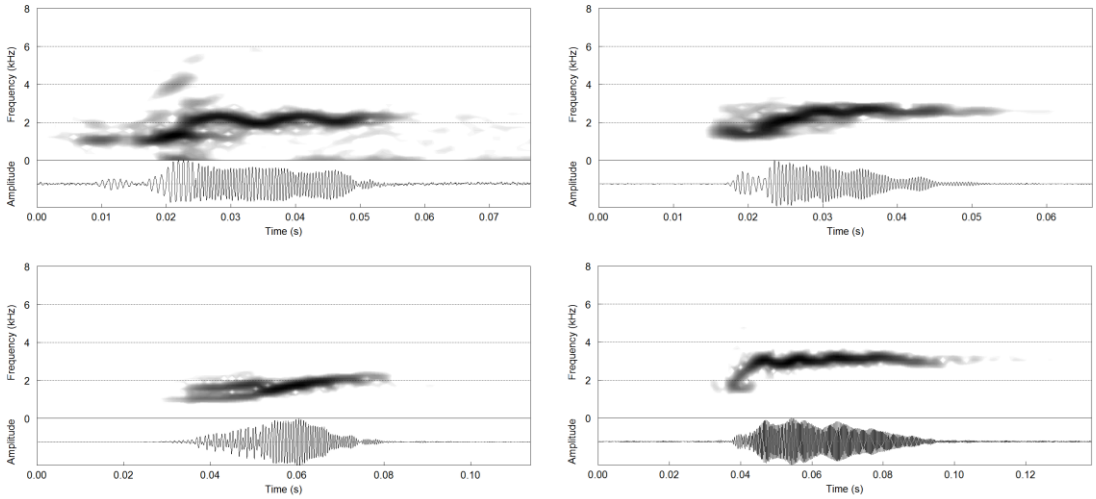
Figura 13 – Cantos de anúncio (oscilograma e espectrograma) de *Leptodactylus griseigularis* (Peru), *L. leptodactyloides* (Equador) e *L. natalensis* (Macaíba, RN).



Fonte: Elaborada pelo autor

Leptodactylus melanonotus, *L. podicipinus*, *L. sabanensis* e *L. validus* possuem cantos de anúncio com características temporais (duração do canto) e espectrais (modulação de frequência) relativamente parecidas entre si (Tabela 5). Ainda assim, o caráter frequência dominante pôde discriminar até certo ponto essas espécies: *L. sabanensis* e *L. validus* têm frequências divergentes em relação a *L. melanonotus* e *L. podicipinus*, as quais com diferenças menos marcantes nesse caráter (Tabela 5; Figura 14).

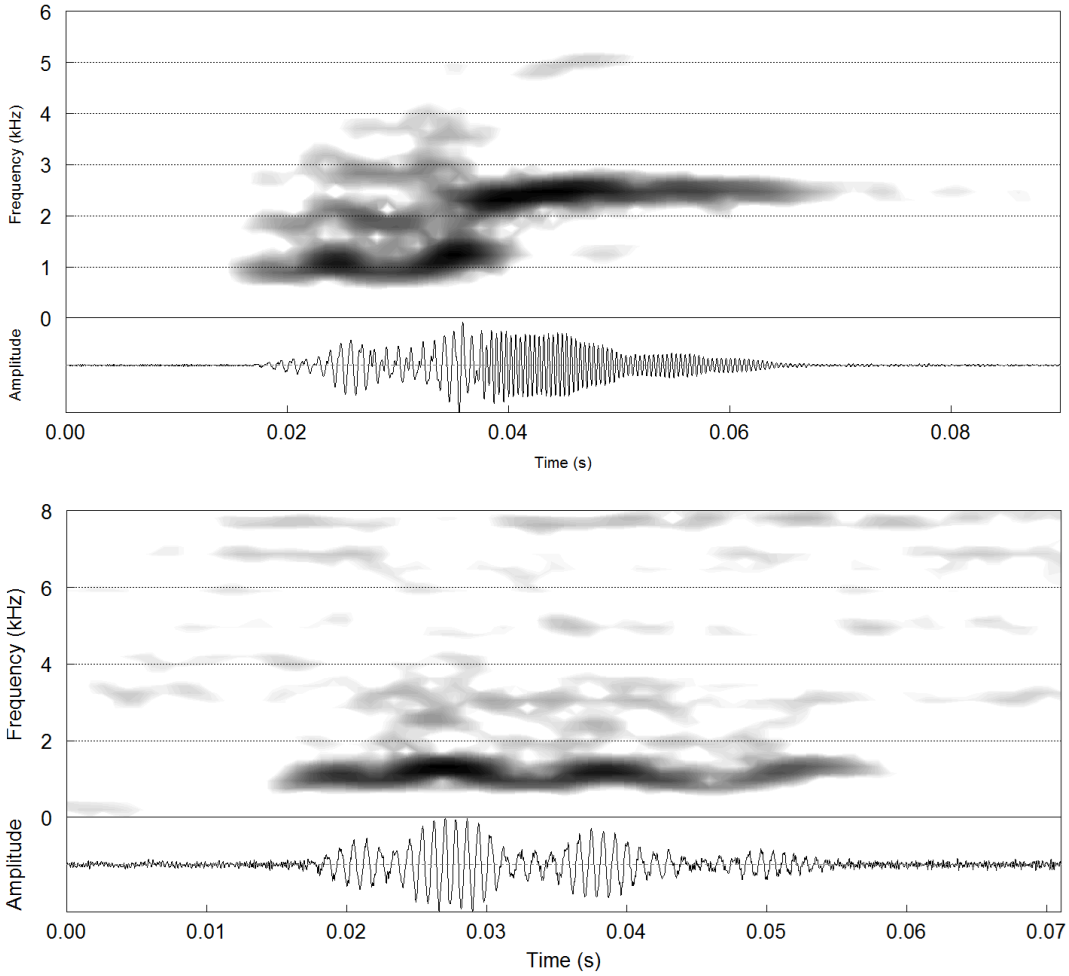
Figura 14 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de (da esquerda para a direita) *Leptodactylus melanonotus* (Costa Rica) e *L. podicipinus* (Ituiutaba, MG) na fileira superior; *L. sabanensis* (Venezuela) e *L. validus* (Cucuí, AM) na fileira inferior.



Fonte: Elaborada pelo autor

Dois padrões acústicos distintos podem ser associados à vocalização de anúncio de *L. petersii*: um canto curto, não pulsado, frequência dominante alta (~ 2,4 kHz), e com modulação de frequência acentuada (Tabela 5; Figura 15), que é basicamente o mesmo padrão acústico descrito para *L. melanonotus*, *L. podicipinus* e *L. validus*. Todavia, a vocalização da região da localidade tipo (alto rio Negro) possui um padrão completamente divergente (Tabela 5; Figura 15): um canto pulsado (pulsos incompletos), frequência dominante baixa (~ 1,1 kHz), e com modulação de frequência irrisória (< 100 Hz). Esses padrões acústicos discordantes para *L. petersii* foram abordados com maior detalhe nas seções seguintes.

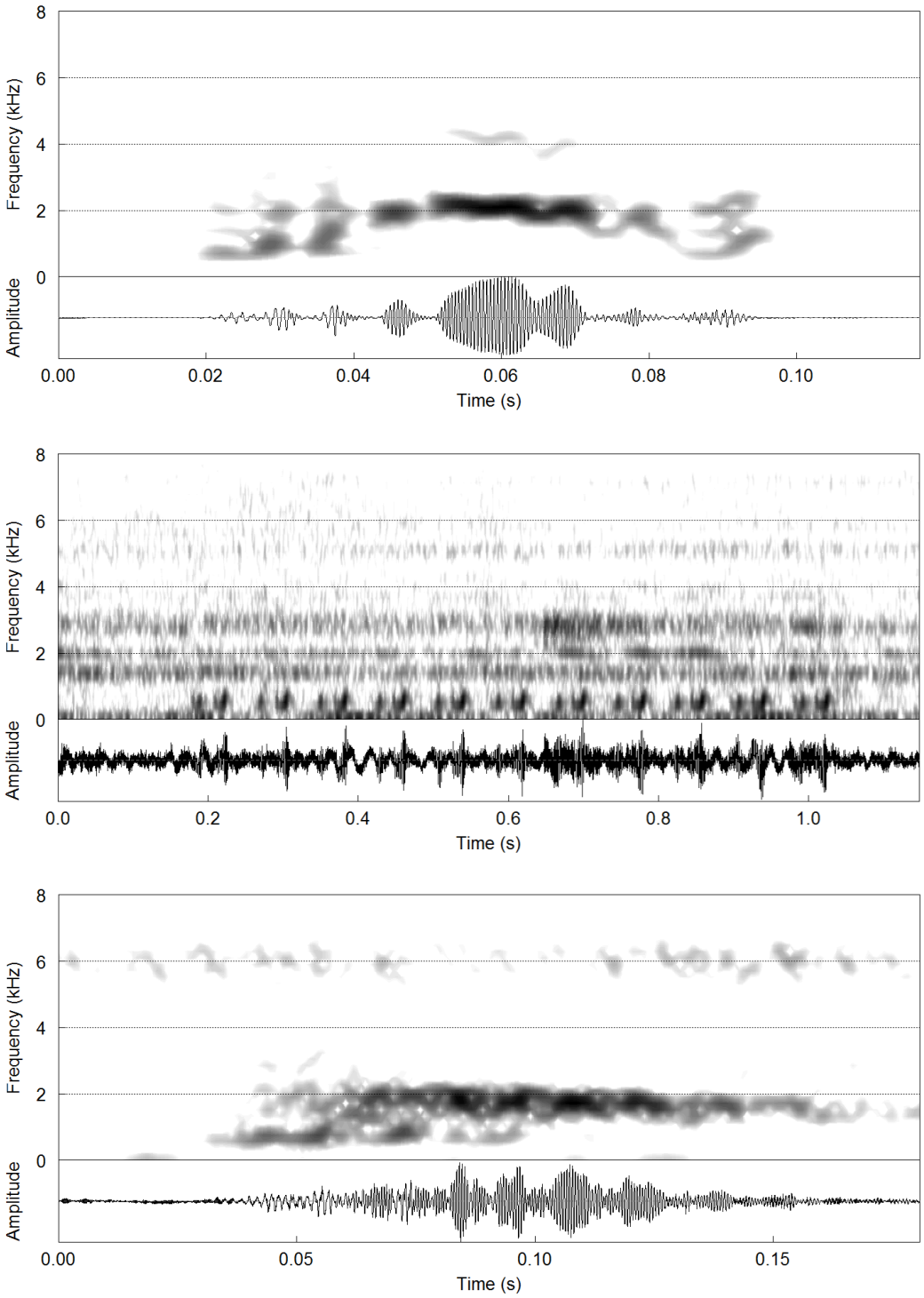
Figura 15 – Dois padrões acústicos (espectrograma e oscilograma) para *Leptodactylus petersii*: vocalização semelhante às de outras espécies do clado (Cantá, RR); padrão nunca antes reportado para a espécie ou outras espécies do clado (São Gabriel da Cachoeira, AM; região da localidade tipo), respectivamente.



Fonte: Elaborada pelo autor

Leptodactylus pustulatus possui uma vocalização com modulações de amplitude e frequência irregulares e mais complexas do que nas demais espécies do clado (BRANDÃO; HEYER, 2005). É possível identificar três sub-unidades principais: uma porção inicial com amplitude relativa baixa formada essencialmente por pulsos incompletos; uma porção central, onde se localiza o pico de amplitude do sinal, cuja estrutura temporal também pode ser mais claramente associada a pulsos incompletos (quando presentes); e uma porção final com a menor amplitude relativa e menor grau de modulação de amplitude, sem definição dos pulsos das duas primeiras porções do canto (Figura 16). Além disso, há uma variação espectral relacionada a cada uma dessas porções, com um padrão de modulação ascendente de frequência entre as primeiras duas porções, e descendente entre as duas últimas. A definição dos pulsos é variável entre cantos, assim como foi observado cantos sem uma definição clara da primeira ou da última porção. *Leptodactylus riveroi* também possui um padrão acústico único no clado. O canto de anúncio pode ser definido como séries de notas com dois pulsos, emitidas a uma taxa alta (HEYER; PYBURN, 1983; Figura 16). Na gravação disponível, o pico de amplitude sempre foi coincidente com o segundo pulsos de cada nota. *Leptodactylus wagneri* possui o canto de anúncio pulsado (pulsos incompletos) e com modulação de frequência moderada (Tabela 4). Esse padrão acústico é único no clado *L. melanonotus* (Figura 16).

Figura 16 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de *Leptodactylus pustulatus* (Pontal do Araguaia, MT), *L. riveroi* (Colômbia) e *L. wagneri* (Equador), respectivamente.



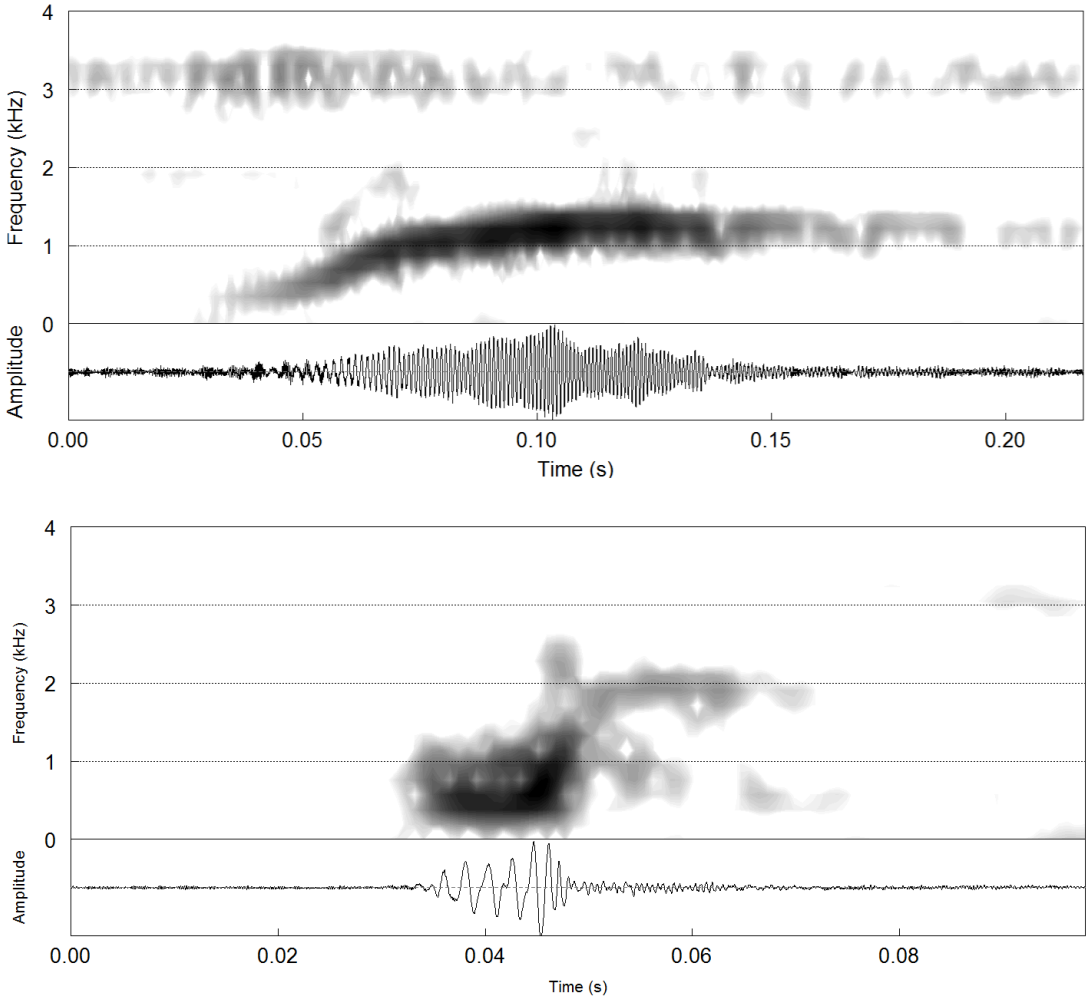
Fonte: Elaborada pelo autor

O clado de *L. latrans* (Tabela 5) é composto por um número menor de espécies (8 spp.), e todas têm vocalização conhecida. Uma ressalva deve ser feita em relação às vocalizações já descritas para *L. macrosternum* para a Venezuela (TÁRANO, 2010) e reportadas para regiões amazônicas (CARVALHO, comunicação pessoal), que, devido à inexatidão de sua localidade tipo na Bahia (BOKERMANN, 1966) e holótipo em estado ruim de preservação (DE SÁ et al., 2014), a correspondência de espécimes e vocalizações a essa espécie é de fato imprecisa. Todavia, as gravações analisadas aqui do interior da Bahia foram preliminarmente atribuídas a *L. macrosternum* pela proximidade à provável localidade tipo da espécie: Salvador, BA (BOKERMANN, 1966). Gravações do nordeste e norte do Brasil foram atribuídas a *L. chaquensis* pela similaridade acústica às vocalizações descritas para a espécie (HEYER; GIARETTA, 2009). Populações do Cerrado do sudeste e centro-oeste brasileiro e populações atlânticas do estado de São Paulo foram atribuídas a *L. latrans*.

As vocalizações das espécies do complexo *L. bolivianaus* (*L. bolivianus*, *L. guianensis* e *L. insularum*) foram reportadas como idênticos, e a diagnose dessas espécies é definida por características morfológicas (HEYER; DE SÁ, 2011). Essas espécies possuem canto de anúncio composto por um tipo de nota não pulsada com modulação ascendente na frequência. Gravações analisadas da Venezuela atribuídas preliminarmente a *L. insularum* diferiram em parâmetros espectrais (Tabela 5; Figura 17). O tamanho amostral foi limitado a cantos de um indivíduo para cada uma das espécies, além do fato de que a gravação de *L. bolivianus* analisado tinha o nível baixo de entrada sonora e nível alto de ruído. Assim, não foi possível fazer interpretações quanto à natureza e grau de diferenciação acústica nesse grupo do clado *L. latrans*.

Leptodactylus silvanimbus possui canto de anúncio composto por um tipo de nota ruidosa e com modulações fracas de amplitude (não foram classificadas como pulsos pela irregularidade das modulações). A energia principal está distribuía numa faixa relativamente larga: a frequência dominante variou entre 500 Hz e 1000 Hz entre os cantos do único indivíduo analisado. O canto não possui modulação de frequência perceptível (Figura 18). Os cantos de anúncios no clado *L. latrans* tendem a ter o pico de amplitude na metade final do canto. Em *L. silvanimbus*, ao contrário, o pico de amplitude está na metade inicial dos cantos. *Leptodactylus viridis* possui um canto não pulsado curto (< 30 ms) e com modulação de frequência acentuada (> 1000 Hz de modulação positiva). Exceto a frequência dominante mais baixa (~ 500 Hz), padrão acústico dessa espécie (Figura 18) é mais similar aos das espécies do clado *L. melanonotus*.

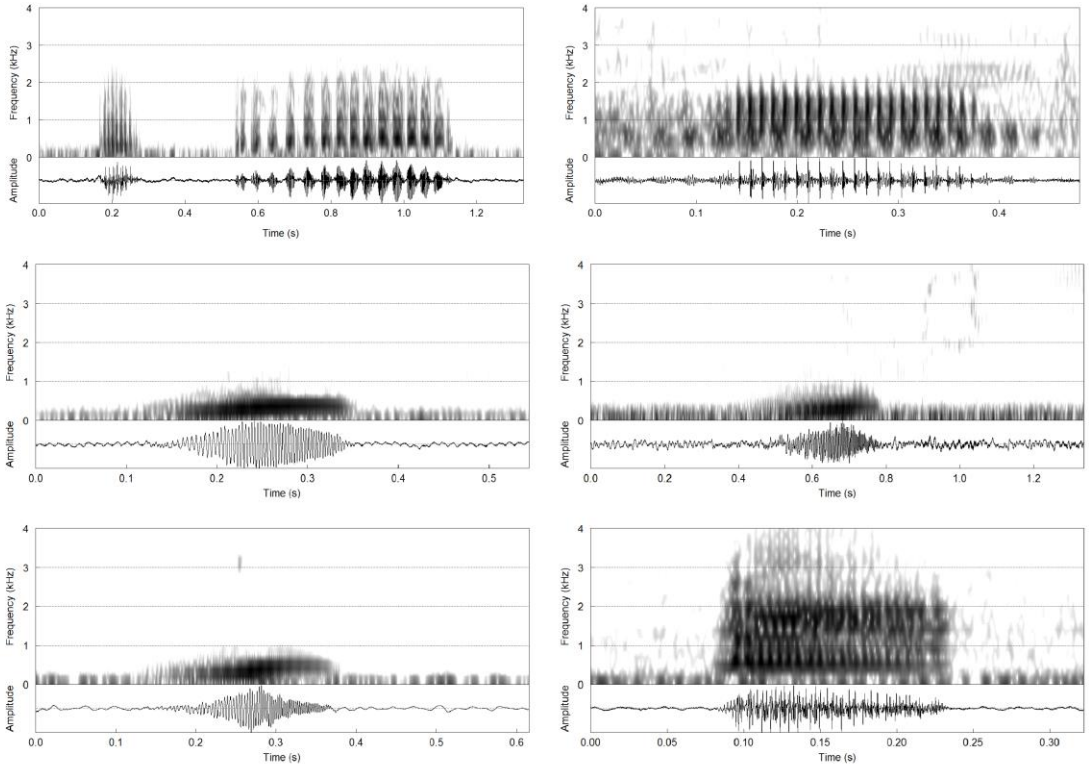
Figura 17 – Cantos de anúncio (espectrograma e oscilograma) de *L.* cf. *insularum* (Venezuela) e *L. viridis* (Carlos Chagas, MG), respectivamente.



Fonte: elaborada pelo autor.

Leptodactylus chaquensis possui um repertório vocal complexo para o clado, que é composto por pelo menos três tipos de cantos (Figura 18), denominados *grunts* (“roncos”), *growls* (“rosnados”) e *trills* (“trinados”) em Heyer e Giaretta (2009). Os cantos do tipo *growl* e *trill* se diferem na estrutura temporal (formato e duração dos pulsos). Ambos os cantos têm baixa frequência: frequência dominante abaixo dos 500 Hz. Há modulação ascendente sutil na frequência ao longo do canto no canto *trill*, enquanto não há modulação aparente no canto *growl*. O canto do tipo *grunt* é muito mais curto que os outros dois tipos e comumente precede cantos do tipo *trill*.

Figura 18 – Três tipos de nota do repertório vocal (espectrograma e oscilograma) de *L. chaquensis* (Araguari, MG). Da esquerda para a direita (fileira superior): uma sequência (canto *grunt* seguido de um canto *trill*) e um canto *growl*; fileira intermediária: cantos de anúncio de *L. latrans* (Ubatuba, SP) e *L.* cf. *latrans* (Uberlândia, MG); fileira inferior: cantos de anúncio de *L.* cf. *macrosternum* (Piatã, BA) e *L. silvanimbus* (Honduras).



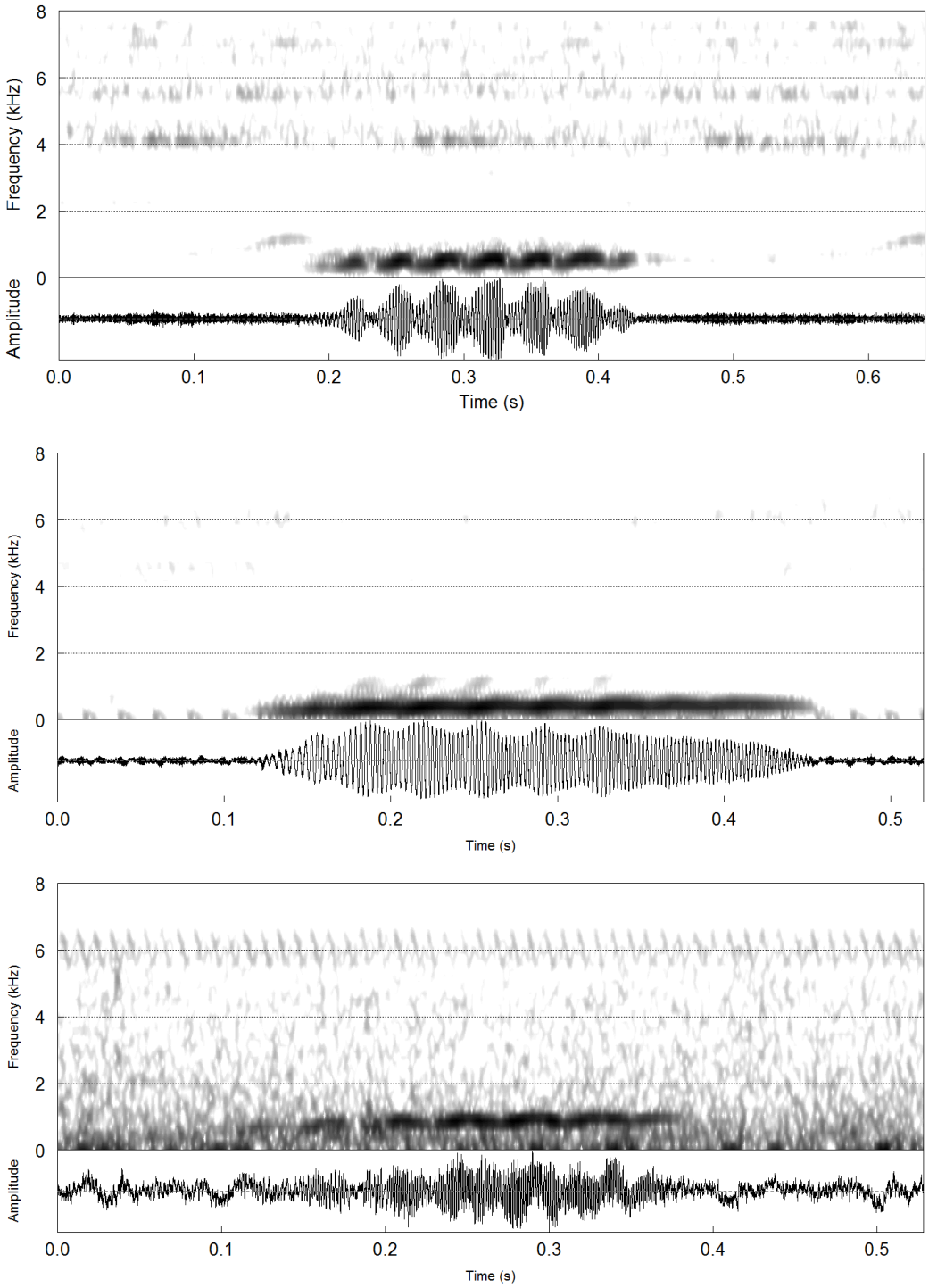
Fonte: elaborada pelo autor.

Leptodactylus latrans (Ubatuba, SP) e *L. macrosternum* (Piatã, BA) compartilham o padrão acústico, que consiste em um canto de baixa frequência (frequência dominante < 500 Hz) e modulação de frequência sutil ou irrisória. É possível observar modulações fracas e irregulares de amplitude em alguns cantos de *L. macrosternum* (não detectadas no reconhecimento de pulsos, mesmo quando as configurações foram alteradas para uma alta sensibilidade a flutuações de modulação de amplitude), enquanto o envelope temporal do canto de *L. latrans* é mais uniforme (Figura 18). Populações atribuídas a *L. latrans* do interior do país (SP e MG) apresentaram as mesmas modulações fracas (e não detectáveis no programa) de *L. macrosternum* na estrutura temporal. Nenhuma outra diferença marcante foi identificada entre esses dois padrões de cantos além das irregulares no envelope (*L. macrosternum* e *L. latrans* do interior do sudeste brasileiro) ou não (*L. latrans* do litoral sudeste).

No clado *L. pentadactylus*, a maioria das espécies possui descrições acústicas disponíveis (Tabela 6). Gravações foram obtidas para várias localidades, especialmente da Floresta Amazônica, mas, muitas vezes, por falta de associação com os padrões morfológicos, não foi possível atribuir uma espécie às mesmas. Por isso, as comparações e interpretações acústicas foram restritas às estruturas acústicas e variáveis principais quantificadas (duração do canto, frequência dominante e modulação linear de frequência; principais variáveis acústicas estão sumarizadas na Tabela 6).

Leptodactylus knudseni, *L. savagei* e *L peritoakites* possuem cantos pulsados (modulação incompleta) com modulação ascendente de frequência sutil (~ 200 Hz). Os cantos das duas primeiras espécies se diferenciam do canto de *L. peritoaktites* na frequência dominante baixa (≤ 600 Hz), enquanto ela está em torno de 800 Hz pelo menos em *L. peritoaktites* (Figura 19).

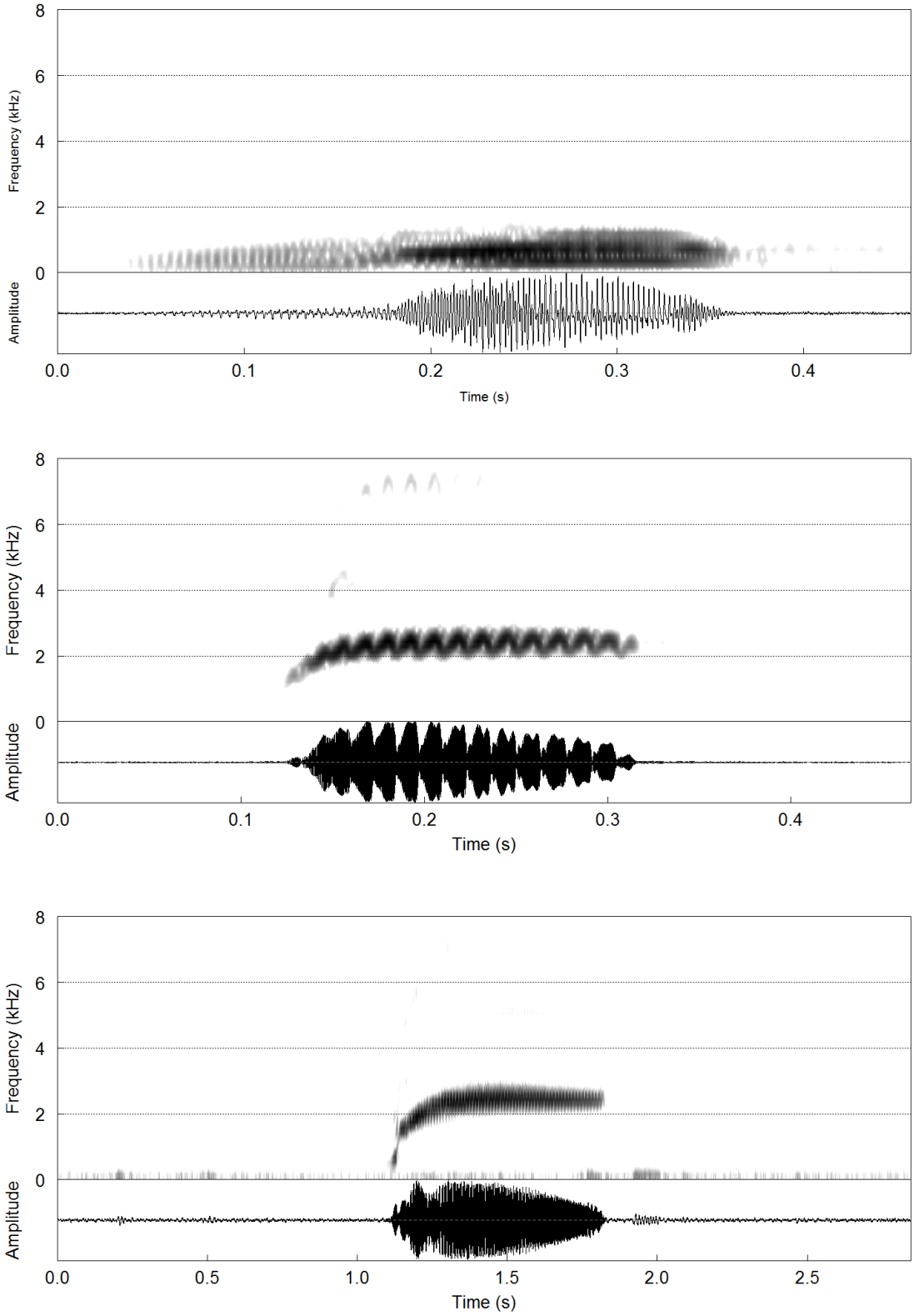
Figura 19 – Cantos de anúncio de *Leptodactylus knudseni* (Altamira, PA), *L. savagei* (Costa Rica) e *L. peritoaktites* (Equador).



Fonte: elaborada pelo autor.

Leptodactylus rhodomystax e *L. rugosus* possuem cantos pulsados (modulação incompleta) com modulação acentuada de frequência e frequência dominante alta (~ 2000 Hz). A parte inicial do canto tem modulação ascendente muito pronunciada, seguida por um platô de frequência ao longo da nota (Figura 20). *Leptodactylus myersi* possui um sinal acústico único no clado *L. pentadactylus* por ter uma estrutura temporal com duas porções distintas, a metade ou primeiro terço do canto consiste em uma porção de baixa amplitude, seguida da porção mais energética do canto (Figura 20). Esse envelope temporal é único no clado.

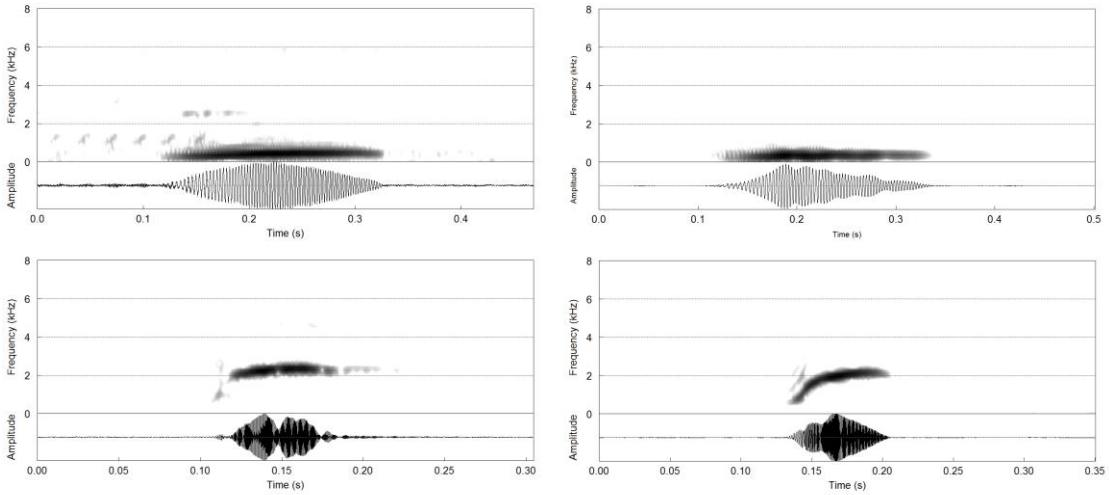
Figura 20 – Cantos de anúncio de *L. myersi* (Guiana Francesa), *L. rhodomystax* (Juruá, AM) e *L. rugosus* (Venezuela), respectivamente.



Fonte: elaborada pelo autor.

Leptodactylus labyrinthicus e *L. vastus* são espécies muito similares ou idênticas morfologicamente, e compartilham o mesmo padrão acústico (Figura 21). O canto dessas espécies é longo (150-200 ms), não pulsado, com modulação de frequência sutil ou irrisória (< 200 Hz) e frequência dominante muito baixa no clado (< 400 Hz). Modulações de amplitude fracas (a ponto das configurações de análise para a alta sensibilidade no reconhecimento de pulso não detectar as flutuações de amplitude) podem ser identificadas em cantos de alguns indivíduos de ambas as espécies. *Leptodactylus rhodonotus* e *L. syphax* têm cantos curtos (< 100 ms), não pulsados, e frequência dominante alta (> 1500 Hz). Essas espécies se distinguem acusticamente pelo grau de modulação na frequência: *L. rhodonotus* tem modulação sutil (< 500 Hz), enquanto *L. syphax* apresenta modulação muito acentuada (> 1000 Hz) (Figura 21).

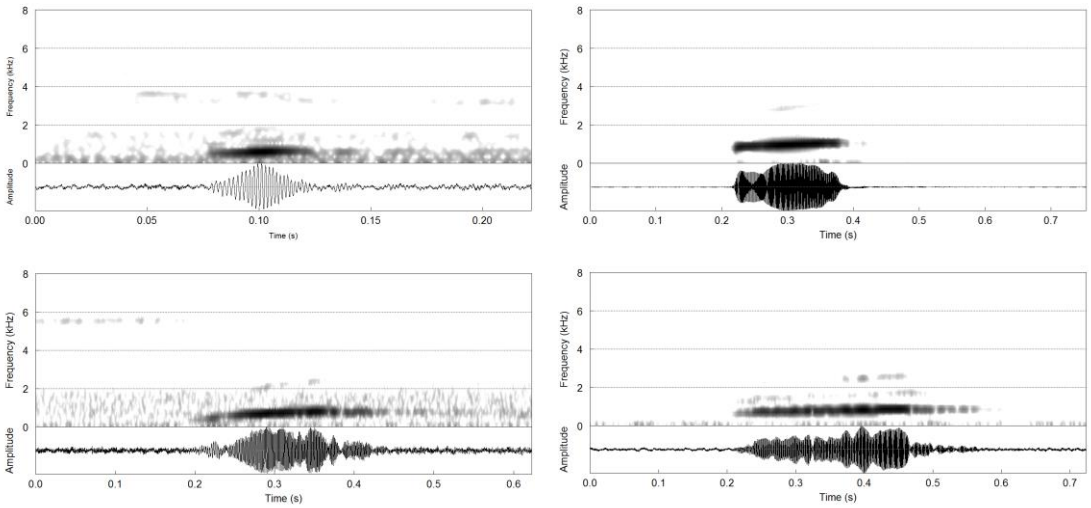
Figura 21 – Cantos de anúncio de (da esquerda para a direita) *Leptodactylus labyrinthicus* (Uberlândia, MG) e *L. vastus* (Piatã, BA) na fileira superior; *L. rhodonotus* (Peru) e *L. syphax* (Alto Paraíso de Goiás, GO) na fileira inferior.



Fonte: elaborada pelo autor.

Leptodactylus pentadactylus, *L. stenodema*, *L. laticeps* e *L. flavopictus* têm padrões acústicos similares: cantos não pulsados e frequência dominante intermediária (600-1000 Hz). A modulação de frequência no canto das quatro espécies é similar, e se apresenta como uma modulação sutil (150-300 Hz) ou desconsiderável (< 100 Hz). Há uma diferença entre o padrão de modulação no canto de *L. laticeps* e das outras duas espécies: *L. laticeps* tem a modulação restrita ou mais marcada na metade final dos cantos, enquanto a modulação é melhor identificada no início ou dentro da primeira metade dos cantos de *L. pentadactylus* e *L. stenodema* (Figura 22). Em contrapartida, o canto das últimas duas espécies parece não apresentar quaisquer características que pudessem ser usadas na discriminação acústica delas, levando em conta que o tamanho amostral para ambas foi muito baixo (cantos de um indivíduo de *L. stenodema* e dois de *L. pentadactylus*). Interessantemente, essas espécies são morfologicamente distintas e têm tamanhos notavelmente diferentes, mas apresentam frequências dos cantos muito similares entre si. As três primeiras espécies podem ser discriminadas pela duração do canto: o canto de *L. flavopictus* é curto (~ 50 ms), em contraposição aos os cantos longos (> 150 ms) das outras três espécies.

Figura 22 – Cantos de anúncio de (da esquerda para a direita) *Leptodactylus flavopictus* (Boracéia, SP) e *L. laticeps* (Paraguai) na fileira superior; *L. pentadactylus* (Colômbia) e *L. stenodema* (Colômbia) na fileira inferior.



Fonte: elaborada pelo autor.

4.2 Padrões fenotípicos: vocalizações, morfologia e padrões de coloração e

Padrões e variabilidade de características da morfologia e coloração foram extensivamente documentados nas contribuições do Dr. W. R. Heyer a esse grupo de anuros nos últimos quarenta e cinco anos (HEYER, 1968, 1969a, b, 1970, 1974b, 1975, 1978, 1994, 2005, 2014; entre outros). Parte dos principais estudos e revisões taxonômicas é citada nessa seção, que focou em pontos não abordados anteriormente ou que merecem uma reavaliação, principalmente nos clados para os quais mais informações foram obtidas (*L. fuscus* e *L. melanonotus*).

O clado *L. fuscus* é atualmente o mais rico em espécies, com quase trinta espécies reconhecidas (CARVALHO et al., 2013). Características de morfologia externa, tamanho e padrões de coloração são úteis na separação de muitas espécies desse agrupamento, com uma compilação dessas características, diagnoses, comparações interespecíficas e variação intraespecífica em Heyer (1978). Além disso, uma síntese de três características fenotípicas comumente utilizadas na taxonomia desse grupo (CRC, pregas dorsolaterais e padrão acústico) está disponível na Tabela 4 em Carvalho et al. (2013). Nos resultados das características fenotípicas para as espécies desse clado (Apêndice A), a variação observada não apresentou diferenças relevantes em relação aos padrões de variação previamente documentados no clado (HEYER, 1978; HEYER et al., 1996; HEYER; JUNCÁ, 2003; GIARETTA; COSTA, 2007; CARVALHO et al., 2013; DE SÁ et al., 2014).

Foram detectados dois padrões contrastantes de diferenciação morfológica/cromática e acústica entre as espécies desse clado. O primeiro padrão agrupa espécies com morfologia, coloração e tamanho similares ou idênticos (morfologicamente crípticas), com diferenciação clara em padrões acústicos. O maior exemplo desse fenômeno no clado é o complexo *L. mystaceus* (HEYER et al., 1996; DE SÁ et al., 2005): os morfótipos similares ou idênticos são compartilhados por *L. didymus*, *L. elenae*, *L. mystaceus*, *L. notoaktites* e *L. spixi*. Essas espécies têm diferenças em CRC médio (Tabela 2), mas nem sempre é evidente a discriminação através dessa característica. A presença de tubérculos nas superfícies superior das canelas e posterior do tarso já foi utilizada na separação das espécies desse complexo (HEYER; HEYER, 2002), mas essas diferenças não foram sempre úteis na discriminação interespecífica. Acusticamente, contudo, *L. mystaceus* se separa completamente das outras espécies pela presença de canto pulsado (Figura 11). As demais espécies se assemelham em frequência dominante, mas apresentam diferenças marcantes na duração do canto e

modulação de frequência: *L. elenae* tem o canto mais longo do que as demais espécies (Tabela 4; Figura 6); as três espécies restantes (*L. didymus*, *L. notoaktites* e *L. spixi*) apresentm características acústicas semelhantes, ressaltando a presença de uma modulação de frequência mais pronunciada em *L. notoaktites* (Tabela 4; Figura 5).

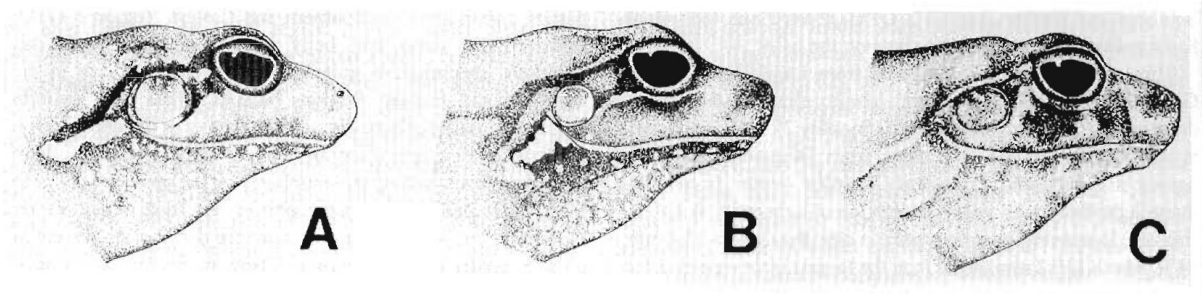
O mesmo padrão pode ser observado entre *L. gracilis* e *L. plaumanni*, que possuem padrões acústicos distintos: *L. gracilis* possui um canto curto com modulação acentuada de frequência, enquanto o *L. plaumanni* vocaliza em padrão trinado (KWET et al., 2001; Figuras 5 e 10); entre *L. bufonius* e *L. troglodytes* (Tabela 2; Figuras 7 e 8; DE SÁ et al., 2014); *L. caatingae*, *L. fragilis* e *L. latinasus* (HEYER et al., 2006). O outro padrão agrupa espécies com diagnoses bem estabelecidas através de características de morfologia externa, coloração e tamanho, desacompanhadas de diferenciação acústica. Exemplos são as espécies com padrão acústico trinado: *L. cunicularius*, *L. cupreus*, *L. oreomantis* e *L. plaumanni* (Figura 10; vide CARAMASCHI et al., 2008; CARVALHO et al., 2013 para os padrões morfológicos das espécies). Em relação a *L. furnarius* e *L. tapiti*, cujos padrões acústicos são muito similares, foi proposta uma possível diagnose morfológica com base na glândula pós-comissural dessas espécies: discreta ou imperceptível em *L. furnarius*, bem desenvolvida em *L. tapiti* (CARVALHO et al; 2013). Foi encontrada uma diferença entre o tamanho dessas espécies (CRC de *L. tapiti* tende a ser menor; Tabela 2), mas houve sobreposição de valores desse caráter a ponto de ter sido abandonado como robusto o suficiente na diagnose diferencial delas. As vocalizações de ambas as espécies também não puderam contribuir na diferenciação interespecífica. Uma diferença sutil na frequência dominante foi identificada (Tabela 3), mas é possível que ela suma com a eventual correção dos parâmetros espectrais do canto pelo CRC dessas espécies.

Com base em evidências de morfologia, coloração e tamanho, não foi possível diferenciar *L. labrosus* e *L. ventrimaculatus*. Ademais, embora a vocalização da última espécie não tenha sido descrita formalmente, o canto de *L. ventrimaculatus* é reportado como tendo o mesmo padrão acústico geral do canto conhecido para *L. labrosus* (CARVALHO; RON, 2011; RON, informação pessoal). As espécies *L. gracilis*, *L. plaumanni*, *L. jolyi* e *L. sertanejo* compartilham o mesmo padrão morfológico (Tabelas 2 e 4; Figura 5), sendo diferenciadas por diferenças em CRC médio (Tabela 2), características do canto e distribuição (KWET et al. 2001; GIARETTA; COSTA, 2007). *Leptodactylus plaumanni* se diferencia facilmente das outras três por possuir um padrão acústico trinado (Figura 10). Entre as outras três espécies, as diferenças acústicas principais (duração do canto e

frequência dominante) foram sutis e apontaram para algum grau de separação entre *L. gracilis* e as outras duas espécies, enquanto essas (*L. jolyi* e *L. sertanejo*) não puderam ser claramente discriminadas através de evidência acústica ou por tamanho (Tabelas 2 e 4).

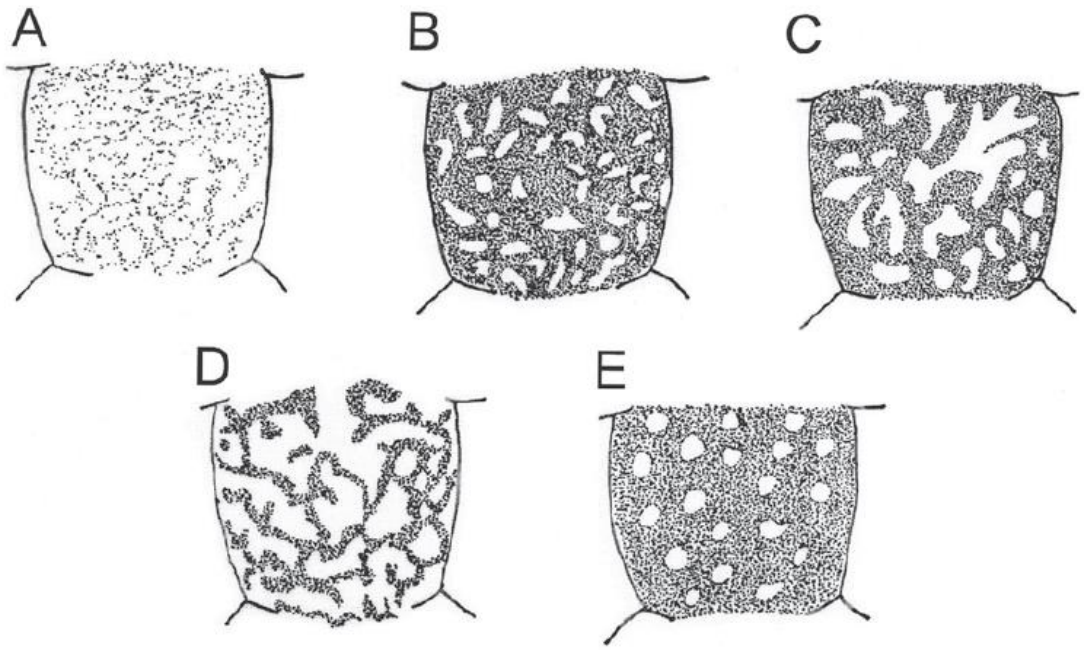
O clado *L. melanonotus* apresenta uma alta variabilidade intraespecífica em tamanho, padrões de morfologia e coloração (HEYER, 1994). Logo, características fenotípicas são muitas vezes incertas na separação das espécies desse agrupamento. As principais características fenotípicas propostas e mais utilizadas na taxonomia desse grupo (sensu HEYER, 1994) incluem CRC, pregas dorsolaterais (ausentes/indistintas, curtas, intermediárias, longas, completas), faixa labial (Figura 23), padrões de coloração do ventre (Figuras 24) e da superfície posterior das coxas (manchada, com faixa longitudinal) (HEYER, 1994).

Figura 23 – Padrões de faixa labial no clado *Leptodactylus melanonotus*: A (faixa labial no lábio superior ausente ou mal delimiatada na porção inferior); B (faixa labial a partir da margem inferior do olho); C (faixa labial a partir da margem posterior do olho).



Fonte: extraída de Heyer (1994), p. 30.

Figura 24 – Padrões de coloração ventral no clado *Leptodactylus melanonotus*: A (manchas escuras e pequenas uniformemente distribuídas ao longo do ventre); B (manchas claras e grandes de formato irregular sobre superfície ventral escura); C (manchas claras e grandes, fusionadas entre si, sobre superfície ventral escura); D (padrão anastomótico); E (pintas claras e com contorno bem delimitado sobre superfície ventral escura).



Fonte: extraída de Heyer (2005), p. 299.

Os resultados das análises morfológicas e acústicas para espécies desse clado revelou que a variação fenotípica intraespecífica nesse agrupamento tende a ser muito maior que nos outros clados de *Leptodactylus*. Mesmo assim, a maior parte das espécies foi delimitada com base nas características citadas anteriormente, especialmente quando a associação entre morfótipos e padrões acústicos foi possível. *Leptodactylus diedrus* e *L. discodactylus* são facilmente definidas no clado pela presença de artelhos expandidos em discos. Entre si, são discriminadas por dois estados morfológicos para esse caráter: em vista dorsal, *L. diedrus* possui um único sulco longitudinal ao longo do disco; em *L. discodactylus*, além desse sulco longitudinal, há sempre um ou dois pares de sulcos laterais ao central, que partem da base do disco em direção às laterais dele. Além disso, os padrões acústicos para essas espécies são particulares no clado e completamente distintos entre si (Tabela 5; Figura 12).

Leptodactylus leptodactyloides e *L. natalensis* compartilham a curta duração do canto (< 30 ms), e só apresentam diferenças acústicas na frequência dominante de seus cantos (Tabela 5; Figura 13). Mesmo que as diferenças nesse caráter acústico não sejam tão notáveis, os dados acessados as espécies indicaram um baixo grau de variabilidade intraespecífica em ambas as espécies. Isso aponta para uma potencial diagnose acústica entre essas espécies. Essas espécies também podem ser diferenciadas entre si por diferenças em tamanho (Tabela 3) e padrão de coloração ventral: *L. leptodactyloides* apresenta manchas ventrais mais concentradas na região peitoral e quase que restritas apenas à porção anterior da barriga (Figura 25), enquanto as manchas são uniformemente distribuídas em *L. natalensis* (Figura 24, estado A; Figura 25).

Figura 25 – Padrão típico de coloração ventral de *Leptodactylus leptodactyloides* (QCAZ 28434: fêmea adulta; CRC = 40,8 mm; Equador). O número de etiqueta da foto corresponde a outra etiqueta de identificação.

Fonte: elaborada pelo autor.

Leptodactylus melanonotus, *L. podicipinus*, *L. sabanensis* e *L. validus* compartilham o padrão acústico (Tabela 5; Figura 14): sinal de anúncio relativamente curto (35-45 ms) e modulação de frequência acentuada (> 900 Hz). Apenas *L. sabanensis* apresenta uma diferenciação acústica clara entre elas pela menor frequência dominante (Tabela 4). A despeito de informação acústica, essas espécies podem se diferenciar pelos padrões de coloração ventral e faixa labial: *L. podicipinus* tem padrão ventral particular (Figura 24, estado B; as manchas claras podem ser mais ou menos bem delimitadas entre indivíduos), enquanto as outras espécies tem a coloração ventral prioritariamente clara; *L. sabanensis* se discrimina das outras espécies pelo maior tamanho (Tabela 3); *L. melanonotus* e *L. validus* pelos estados B e C de faixa labial (Figura 23), respectivamente. *Leptodactylus pustulatus* se diferencia de todas as espécies do clado pela combinação de padrão ventral de coloração (Figura 24; estado E), e vocalização distinta, que consiste numa estrutura temporal com sub-unidades e comportamento espectral complexo, isto é, modulações positivas e negativas ao longo do sinal (Figura 16). *Leptodactylus wagneri* é uma espécie facilmente reconhecida pelo grande tamanho no clado (Tabela 3), pregas dorsolaterais longas e coloração ventral tendendo ao um padrão anastomótico (Figura 24, estados C e D; Figura 26). A vocalização pulsada dessa espécie é única no clado (Figura 16)

Populações da Amazônia brasileira e do Cerrado atribuídas ao nome *L. petersii* (sensu HEYER, 1994) têm padrões de coloração e de vocalização distintos, impossibilitando o uso desse nome para algumas populações. A fim de dar maior poder de resolução taxonômica aos resultados obtidos de variabilidade intraespecífica na espécie nominal *L. petersii*, uma abordagem integrativa foi incorporada a essa parte dos resultados de diversidade fenotípica do clado *L. melanonotus*. Os resultados estão descritos na seção próxima separadamente (seção 4.4).

Figura 26 – Padrão típico de coloração ventral de *Leptodactylus wagneri* (QCAZ 52346: fêmea adulta; CRC = 70,5 mm; Equador).

Fonte: elaborada pelo autor.

4.3 Revisão taxonômica de *Leptodactylus petersii*

Como dito na seção anterior, o nome *L. petersii* atualmente abriga uma diversidade de padrões fenotípicos que vão de encontro com a definição original da espécie nominal (HEYER, 1994). As populações referidas até agora como *L. petersii*1-3 no texto, correspondem à espécie nominal e dois sinôminos juniores dela (*L. brevipes* e *L. intermedius*), respectivamente, e tais nomes serão usados no texto desse ponto em diante para fins de comparação.

Leptodactylus petersii foi descrito por Steindachner (1864) de Marabitanas, uma localidade do alto Rio Negro (Amazonas), com base em um único espécime. Heyer (1970) reportou que esse espécime nunca foi encontrado após várias buscas e foi então considerado perdido. Nesse mesmo estudo, ele designou um espécime da Venezuela como neótipo dessa espécie. A designação foi invalidada pelo mesmo autor posteriormente (HEYER, 1994), quando foi notado que o neótipo representava uma outra espécie do grupo que não *L. petersii*. Nesse estudo de 1994, Heyer examinou material de várias localidades da América do Sul que ele atribuiu a *L. petersii*, quando ele incluiu duas espécies na sinonímia de *L. petersii*: *L. brevipes*, descrita por Cope (1887) da região da Chapada dos Guimarães (MT); e *L. intermedius*, descrita por A. Lutz (1930) de Manacapuru (AM). Cabem as ressalvas que *L. brevipes* já estava sinomizada desde 1961, quando Rivero sinonimizou a espécie pela primeira vez (a *L. podicipinus*); e Heyer (1970) tinha sinonimizado *L. intermedius* e incluído *L. brevipes* na sinonímia de *L. wagneri*.

Embora não existam informações disponíveis para o espécime tipo de *L. petersii*, além das informações disponíveis na sua descrição original (STEINDACHNER, 1864), o esforço amostral para coleta de informações dessa espécie nesse estudo foi concentrado na região do alto Rio Negro (AM), que compreende a localidade tipo exata da espécie: as imediações do antigo Forte de São José de Marabitanas, hoje em ruínas (coordenadas aproximadas: 0°56'16" N; 66°48'42" O). O ponto mais próximo acessado foi Cucuí, distrito de São Gabriel da Cachoeira, acessado somente através de barco saindo de São Gabriel (coordenadas aproximadas: 1°11'12" N; 66°49'52" O), localizado cerca de 15 km a norte de Marabitanas. Esforço de coleta também foi feito nos arredores da cidade de São Gabriel (coordenadas aproximadas do ponto de coleta: 0°6'51" S; 67°2'48" O), cerca de 120 km a sul de Marabitanas, porém ambas as localidades às margens do rio Negro. Espécimes associados a três morfótipos do clado *L. melanonotus* (sensu HEYER; 1994) foram coletados nesses

dois pontos: duas espécies em Cucuí (*L. diedrus* e *L. validus*; comparações no texto dessa seção) e uma espécie em São Gabriel (*L. petersii*; Figura 27). Em relação às outras duas espécies coletadas na região do alto Rio Negro (*L. validus* e *L. diedrus*), *L. petersii* pode ser facilmente diferenciada por padrões de morfologia (artelhos expandidos em *L. diedrus*; sem expansões em *L. petersii* e *L. validus*), de coloração (coloração ventral com padrão anastomótico em *L. petersii*; Figura 24, estado D; coloração ventral tende a ser imaculado nas outras espécies; HEYER; 1994) quanto pelas vocalizações (Tabela 5; Figuras 12, 14 e 15).

Topótipos de ambos os sinônimos juniores foram coletados: uma série de *L. brevipes* na Chapada dos Guimarães (Figura 28); e uma série de *L. intermedius* em Manacapuru foi coletada pelo Dr. Thiago Gazoni e tombada na coleção C.F.B. Haddad (Rio Claro, São Paulo). Outras informações quanto à coleta e outros dados referentes a *L. intermedius* foram obtidas na tese não publicada desse pesquisador (GAZONI, 2015). Diferente de *L. petersii*, existe material tipo disponível associado a ambos os sinônimos. O holótipo de *L. brevipes* (coleção da Academia de Ciências Naturais da Filadélfia, ANSP) com a exceção da perda de parte dos padrões de coloração, está em bom estado de preservação (ANSP 11270; Figura 29). A série contendo quatro sintipos de *L. intermedius* (MNRJ), por sua vez, está em péssimas condições de preservação, com braços e pernas separadas do corpo, e sem as características de coloração importantes na identificação de espécies no clado (Figura 30). Por conta disso, as etiquetas de identificação acabaram se desassociando dos espécimes, e apenas um deles ainda tem associação a um número de tombo (ALMN 1441; Figura 30).

Figura 27 – Macho adulto de *Leptodactylus petersii* em vista dorsolateral e ventral: AAG-UFU 3891; CRC = 26,6 mm; São Gabriel da Cachoeira, Amazonas.

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 28 – Machos adultos de *Leptodactylus brevipes*: acima (topotipo AAG-UFU 1462; CRC = 34,4 mm; Chapada dos Guimarães, Mato Grosso); abaixo (AAG-UFU 1047; CRC 35,5 mm; Barra do Garças, Mato Grosso).

Fonte: elaborada pelo autor (acima); Dr. Ariovaldo A. Giaretta (abaixo).

Figura 29 – Holótipo de *Leptodactylus brevipes*, Chapada dos Guimarães, Mato Grosso, Brasil (ANSP 11270; CRC = 50 mm). Vista dorsal e lateral, respectivamente.

Fonte: enviada por Ned Gilmore (ANSP).

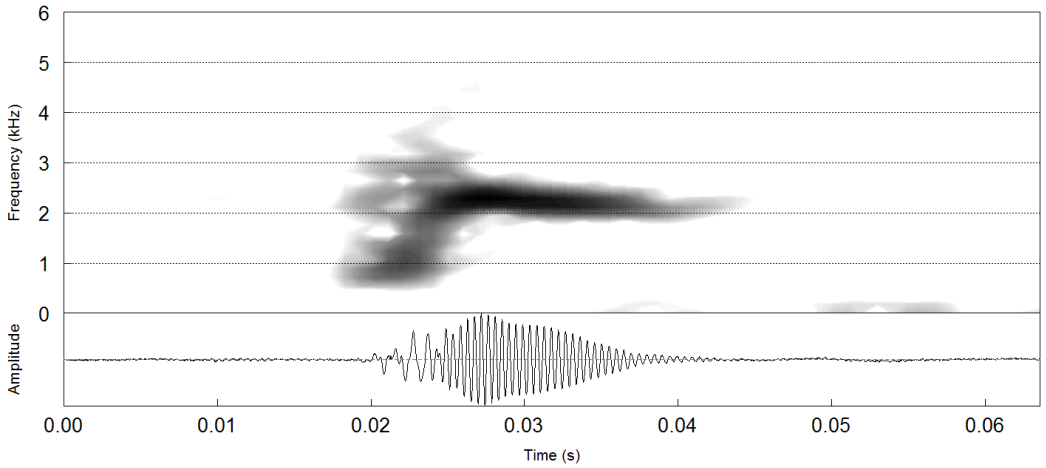
Figura 30 – Série dos síntipos de *Leptodactylus intermedius*, Manacapuru, Amazonas, Brasil. De cima para baixo: placa de vidro contendo parte dos quatro sintipos e os dados de coleta do frasco que continha a série; único espécime ainda identificado com etiqueta de tombo (ALMN 1441; CRC = 18,5 mm); espécime sem etiqueta, individualizado por ser o único espécime sem etiquetas sem nenhuma das pernas presas ao corpo (CRC 27,1 mm). Os outros dois síntipos podem ser individualizados por ainda terem uma e duas pernas.

Fonte: fotografada por Dr. Marcos Bilate

Os padrões de coloração, com referência especial à coloração ventral e faixa labial, foram úteis na discriminação entre *L. brevipes* e *L. intermedius* em relação a *L. petersii*. Nos dois sinônimos, a faixa labial foi classificada no estado B (Figura 23), partindo da margem inferior do olho (Figura 28), enquanto que os topótipos de *L. petersii* apresentaram esse caráter no estado C (Figura 23), partindo da margem posterior do olho (Figura 27; fragmentada nesse espécime). Esses estados de caráter não foram bem preservados nos tipos de ambos os sinônimos juniores. Mesmo assim, há alguma indicação de que a faixa labial no holótipo de *L. brevipes* (Figura 29 em vista lateral) e de um síntipo de *L. intermedius* (Figura 30 em vista lateral) seja concordante com o estado B para esse caráter. O padrão de coloração ventral em *L. petersii* tem padrão anastomótico (Figura 24, estado D), enquanto *L. brevipes* tem coloração no estado A, que consiste em manchas escuras regularmente distribuídas sobre superfície ventral clara ao longo da barriga (com variações na quantidade de manchas), e *L. intermedius* no estado B ou E (manchas/pintas claras sobre superfície ventral mais escura ao longo da barriga). Esse caráter não foi preservado em tipos de nenhum dos dois sinônimos juniores.

Os padrões de coloração descritos acima são evidências suficientes para o reconhecimento de *L. brevipes* e *L. intermedius* como espécies distintas de *L. petersii*. Além disso, padrões acústicos de *L. brevipes* (Tabela 5; Figura 31) são divergentes dos dois tipos de cantos descritos para *L. petersii* na seção 4.2 desse capítulo (Tabela 5; Figura 15). O canto de anúncio de *L. brevipes* consiste em um canto muito curto (< 25 ms), não pulsado e com frequência dominante alta (~ 2 kHz), que se assemelha aos sinais de anúncio de *L. leptodactyloides* e *L. natalensis*. Gravações de um topótipo de *L. intermedius* foram enviadas pelo Dr. Thiago Gazoni, mas não foi possível conduzir análises quantitativas devido à baixa entrada do sinal. Todavia, o padrão acústico foi reconhecido no mesmo padrão que aquele para as espécies da Figura 14, que também corresponde a um dos dois padrões acústicos de *L. petersii* (Figura 15).

Figura 31 – Canto de anúncio (espectrograma e oscilograma) de *L. brevipes* (Chapada dos Guimarães, MT).



Fonte: elaborada pelo autor.

Reconhecidas diferenças consistentes entre *L. petersii*, *L. brevipes* e *L. intermedius*, o próximo passo foi considerar outras espécies do clado com padrões fenotípicos similares nas comparações interespecíficas. *Leptodactylus petersii* se diferencia facilmente das espécies do clado pelo padrão anastomótico de coloração ventral (Figura 24, estado D; Figura 27 em vista ventral). A espécie com padrão ventral que mais tendeu ao padrão anastomótico foi *L. wagneri* (Figura 24, estados C e D; Figura 26). Entretanto, *L. wagneri* possui pregas dorsolaterais longas (pregas curtas ou indistintas em *L. petersii*; Figura 27) e tamanho muito maior em comparação a *L. petersii* (Tabelas 7 e 8). *Leptodactylus brevipes* se assemelha nos padrões de coloração ventral e tamanho com *L. natalensis* (Tabelas 7 e 9), uma espécie historicamente associada à Mata Atlântica (HEYER; HEYER, 2006). Entretanto, essas espécies se diferenciam nos estados de caráter para faixa labial: *L. brevipes* apresenta faixa labial a partir da margem inferior do olho (estado B; Figura 23); *L. natalensis* a partir da margem posterior do olho (estado C; Figura 23). Além disso, há diferenças acústicas relativas à frequência dominante do canto dessas espécies: o canto de *L. natalensis* tem frequência baixa (< 1,0 kHz); enquanto a de *L. brevipes* alcança 2 kHz (Tabela 4; Figura 31). Em relação a outras espécies aparentemente similares (*L. leptodactyloides* e *L. validus*), *L. brevipes* se diferencia por apresentar coloração ventral no estado A (Figura 24), enquanto as outras duas espécies tendem a ter padrões de cor restritos ao peito e porção anterior do ventre, e barriga (pelo menos a metade posterior) imaculada (Figura 25). Espécimes de *L.*

brevipes tendem a ser menores que os de *L. leptodactyloides* (Tabelas 7 e 8). Acusticamente, essas três espécies podem ser diferenciadas pela frequência dominante (Tabela 5, Figura 31).

Tabela 7 – Variáveis morfométricas (mm) de *Leptodactylus petersii* (São Gabriel da Cachoeira, AM; região da localidade tipo) e sinônimos juniores dessa espécie. Descritores estatísticos: média±DP (mínimo-máximo). * Localidade tipo.

	L. petersii		***L. brevipes***				***L. intermedius***	
	S. G. Cachoeira (AM)		**Ch. Guimarães (MT)***		**Barra do Garças (MT)**		**Manacapuru (AM)***	
	M (6)	**F (1)**	**M (12)**	**F (6)**	**M (9)**	**F (5)**	**M (3)**	**F (2)**
CRC	28,4±2,3 (26,6-31,2)	38,6	36,9±1,6 (36,4-39,4)	42,4±4,2 (38,4-50,0)	34.5±2.1 (31.0-36.5)	41.3±1.9 (39.4-43.8)	29,1±1,4 (27,9-30,6)	33,2±4,6 (29,9-36,4)
CF	14,4±0,1 (13,8-15,2)	17,2	18,3±0,7 (16,9-19,6)	19,9±1,9 (18,2-22,8)	17.7±0.8 (16.9-19.5)	19.8±1.3 (18.8-22.1)	13,9±1,1 (12,8-15,1)	15,3±1,5 (14,3-16,4)
CT	13,9±0,7 (13,2-14,9)	17,8	18,2±0,7 (17,0-19,2)	20,1±2,0 (18,4-23,7)	17.2±1.0 (15.8-19.1)	19.6±0.9 (18.9-21.2)	13,8±1,2 (12,8-15,1)	15,0±1,0 (14,3-15,7)
CP	15,6±0,5 (14,9-16,1)	20,8	20,7±0,9 (19,2-22,1)	22,1±1,7 (20,8-24,8)	19.9±1.1 (17.7-21.3)	22,6±1,1 (21,6-24,3)	15,9±1,8 (14,5-17,8)	17,5±1,0 (16,8-18,2)
CM	7,3±0,4 (6,8-7,7)	9,3	9,7±0,4 (8,9-10,2)	10,3±1,2 (8,8-11,7)	9.8±0.3 (9.2-10.2)	10,7±0,5 (10,2-11,5)	8,0±0,4 (7,6-8,3)	9,1±1,5 (8,0-10,2)
CC	12,7±0,9 (11,8-13,9)	15,5	14,7±0,5 (14,2-15,9)	16,4±1,1 (15,1-18,0)	14,5±1.0 (13.2-16.2)	16,3±0,8 (15,6-17,7)	12,1±0,8 (11,6-12,9)	13,2±0,5 (12,8-13,6)
LC	11,0±0,7 (10,2-12,0)	13,4	13,7±0,6 (12,9-14,6)	15,1±1,2 (14,1-17,2)	12.9±0.8 (12.1-14.1)	14,3±1,1 (13,3-16,0)	11,1±0,9 (10,2-12,0)	12,2±1,3 (11,2-13,1)
DO	3,0±0,3 (2,6-3,3)	3,4	3,6±0,3 (3,0-4,0)	3,5±0,1 (3,3-3,7)	3.3±0.3 (2.9-3.7)	3,3±0,2 (3,0-3,6)	2,9±0,4 (2,6-3,3)	3,0±0,0 (3,0-3,0)
DT	2,6±0,2 (2,3-2,8)	2,6	2,5±0,2 (2,2-2,8)	2,9±0,2 (2,6-3,1)	2.7±0.2 (2.3-3.0)	2,8±0,1 (2,6-2,9)	2,1±0,4 (1,8-2,6)	2,2±0,1 (2,1-2,3)
DON	3,5±0,4 (3,4-4,0)	4,2	3,8±0,2 (3,5-4,0)	4,2±0,5 (3,5-4,9)	3.8±0.3 (3.1-4.1)	4,3±0,4 (3,7-4,8)	2,9±0,2 (2,7-3,1)	3,2±0,0 (3,2-3,2)

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 8 – Variáveis morfométricas (mm) de *Leptodactylus wagneri* (província de Pastaza, Equador) e *L. leptodactyloides* (províncias de Pastaza e Orellana, Equador). Descritores estatísticos: média±DP (mínimo-máximo).

Variáveis	***Leptodactylus wagneri***		***Leptodactylus leptodactyloides***	
	M (19)	**F (5)**	**M (2)**	**F (5)**
CRC	53,3±3,7 (46,1-60,0)	66,3±2,8 (62,4-70,3)	41,8±2,3 (40,2-43,5)	47,8±2,8 (45,0-51,6)
CF	26,7±1,8 (22,9-29,5)	34,1±2,1 (31,7-31,2)	20,1±1,0 (19,4-20,9)	22,8±1,1 (21,8-24,3)
CT	28,1±1,7 (23,6-30,6)	36,1±2,1 (33,8-39,4)	21,4±0,9 (20,8-22,0)	23,3±1,3 (22,1-25,1)
CP	28,5±1,7 (24,3-31,1)	36,1±1,9 (34,6-39,5)	21,4±0,9 (20,8-22,0)	24,0±1,5 (22,2-26,0)
CM	13,4±1,4 (17,9-23,5)	16,4±1,0 (15,4-17,7)	9,8±1,7 (8,6-11,0)	11,5±0,6 (11,0-12,2)
CC	20,9±1,4 (17,9-23,5)	24,8±1,5 (23,2-27,2)	15,7±1,7 (14,6-16,9)	18,3±1,8 (16,1-20,4)
LC	19,3±1,2 (16,7-21,2)	23,9±1,4 (22,7-26,0)	14,8±1,0 (14,1-15,5)	16,2±1,2 (14,9-17,9)
DO	4,9±0,4 (4,0-5,4)	5,4±0,5 (5,0-5,9)	3,6±0,3 (3,4-3,8)	3,6±0,3 (3,3-4,0)
DT	3,9±0,3 (3,2-4,5)	4,3±0,4 (3,9-4,9)	2,7±0,2 (2,6-2,8)	3,1±0,2 (2,9-3,3)
DON	5,3±0,3 (4,7-5,8)	6,6±0,7 (5,7-7,3)	4,5±0,04 (4,4-4,5)	4,9±0,3 (4,5-5,3)

Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 9 – Variáveis morfométricas (mm) para seis populações de *Leptodactylus natalensis*. Descritores estatísticos: média±DP (mínimo-máximo).

Variáveis	Macaíba (RN)		Ilhéus (BA)		Araguari (MG)		Carolina (MA)	Cumari (GO)	Uruaçu (GO)	
	M (2)	F (1)	M (2)	F (1)	M (10)	F (3)	M (4)	M (4)	M (13)	F (2)
CRC	33.7±1.2 (32.9-34.6)	36,9	37.3±1.0 (36.6-38.1)	43,4	36.4±2.2 (32.1-40.1)	42.8±2.6 (40.2-45.4)	35.6±1.5 (33.9-37.1)	34.5±2.5 (30.8-36.1)	36.1±1.6 (33.3-39.2)	42.8±2.2 (41.2-44.3)
CF	16.3±0.9 (15.7-17.0)	17,3	19.9±0.1 (19.8-20.0)	20,2	18.3±1.1 (16.8-20.0)	20.5±0.9 (19.5-21.4)	18.2±0.6 (17.7-18.9)	17.8±1.2 (16.3-19.2)	18.6±1.1 (16.8-20.7)	21.1±2.0 (19.7-22.4)
CT	15.8±0.4 (15.5-16.1)	17,1	19.1±0.4 (18.9-19.4)	20,6	17.9±1.1 (15.8-20.0)	20.3±1.1 (19.1-21.2)	17.8±0.5 (17.6-18.4)	17.3±1.2 (15.6-18.5)	18.1±0.9 (16.7-19.6)	20.7±1.6 (19.5-21.8)
CP	18.9±1.0 (18.2-19.6)	20,5	21.9±1.2 (21.0-22.7)	22,3	19.6±1.2 (18.2-22.3)	22.5±1.5 (20.8-23.4)	19.7±0.9 (19.1-20.8)	19.2±1.6 (17.3-21.1)	19.4±1.1 (17.9-21.8)	24.0±1.6 (22.9-25.2)
CM	9.2±0.3 (8.8-9.5)	9,9	10.6±0.5 (10.3-11.0)	10,6	9.8±0.8 (8.9-11.3)	10.9±0.6 (10.3-11.4)	9.6±0.7 (8.7-10.5)	9.6±0.7 (8.5-10.1)	10.0±0.5 (8.9-10.6)	11.4±0.5 (11.0-11.8)
CC	14.3±0.3 (14.1-14.5)	14,9	16.6±0.9 (15.9-17.2)	17,2	15.0±0.8 (14.0-16.3)	17.2±0.4 (16.9-17.6)	14.5±0.4 (14.1-15.1)	14.4±1.0 (12.9-15.3)	15.0±0.8 (13.6-16.3)	17.7±0.7 (17.2-18.1)
LC	12.6±0.5 (12.3-12.9)	13,6	15.5±1.1 (14.7-16.2)	15,1	14.0±0.6 (13.1-15.5)	15.8±1.1 (14.6-1.7)	13.2±0.2 (13.1-13.5)	12.7±0.7 (11.6-13.2)	13.7±0.7 (12.5-15.1)	16.0±0.5 (15.6-16.4)
DO	3.1±0.1 (3.0-3.1)	3,0	3.9±0.6 (3.4-4.3)	4,0	3.5±0.2 (3.1-3.7)	3.6±0.4 (3.3-4.0)	3.3±0.5 (2.8-4.0)	3.0±0.2 (2.8-3.2)	3.2±0.4 (2.9-4.2)	4.0±0.4 (3.7-4.2)
DT	2.4±0.1 (2.3-2.4)	2,3	2.9±0.1 (2.8-3.0)	3,0	2.7±0.4 (2.3-3.5)	2.8±0.2 (2.7-3.0)	2.7±0.2 (2.5-2.9)	2.5±0.1 (2.3-2.5)	2.6±0.2 (2.3-3.0)	3.1±0.3 (2.9-3.3)
DON	3.5±0.1 (3.4-3.5)	3,7	3.8±0.5 (3.4-4.1)	4,2	3.8±0.2 (3.5-4.1)	4.1±0.1 ()4.0-4.1	3.7±0.3 (3.4-4.0)	3.7±0.1 (3.5-3.7)	3.7±0.3 (3.0-4.4)	4.0±0.0 (4.0-4.0)

Fonte: elaborada pelo autor.

Em relação a *L. intermedius*, as únicas espécies que podem compartilhar a faixa labial no estado B (Figura 23) e coloração ventral no estado B e/ou E (Figura 24) são *L. podicipinus* e *L. pustulatus*. A última espécie se separa de *L. intermedius* e *L. podicipinus* pelo tamanho das manchas distribuídas no ventre, maiores e mais esparsas em *L. pustulatus*; menores e mais numerosas nas outras espécies. Machos adultos de *L. pustulatus* também não apresentam espinhos córneos na base do dedo I (presente nas outras espécies), e apresenta um canto singular no clado (vide descrição na seção 4.2; Figura 16). *Leptodactylus intermedius* e *L. podicipinus* se diferenciam em tamanho (Tabelas 3 e 7) e no padrão de coloração ventral: *L. podicipinus* tende a ter um padrão muito bem definido de manchas claras de formato arredondado e com contorno bem delimitado, que estão regularmente distribuídas nas superfícies ventrais da barriga e pernas sobre coloração ventral escura (Figura 24, estado E); em *L. intermedius*, embora esse estado para coloração ventral possa ser reconhecido em alguns espécimes, as manchas tendem a ter um formato mais irregular, o coloração ventral escura é menos bem marcada, dando uma impressão de equilíbrio entre o contraste claro e escuro, e as manchas tendem a se distribuir pela barriga, mas são menos bem marcas nas superfícies ventrais das pernas (estado B; Figura 24). Com base na gravação acessada, não é possível identificar nenhuma característica acústica que seja notavelmente distinta em comparação ao canto de *L. podicipinus* (Tabela 5; Figura 14). As evidências citogenéticas e moleculares disponíveis (GAZONI, 2015) são congruentes com os resultados das análises morfológicas e acústicas, e corroboram a hipótese de que *L. brevipes* e *L. intermedius* sejam linhagens independentes de *L. petersii* e outras espécies consideradas aqui nas comparações e dão suporte à proposição de revalidação de ambas as espécies. Ambas se agruparam com *L. podicipinus*. Nesse clado, *L. brevipes* é o agrupamento que pode ser reconhecido com o maior número de características fenotípicas em morfologia, coloração e padrões acústicos, além de evidências citogenéticas adicionais (GAZONI, 2015). Em contraponta, *L. podicipinus* e *L. intermedius* são espécies com padrões fenotípicos semelhantes. *Leptodactylus petersii* se agrupou com *L. natalensis*. Essas espécies podem ser diferenciadas facilmente pelo conjunto de informações acústicas e de padrão ventral de coloração. Vide Figura 32 para os agrupamentos recuperados em uma reconstrução filogenética para espécies do clado *L. melanonotus*.

Figura 32 (continua) – Reconstrução filogenética de espécies do clado *Leptodactylus melanonotus* a partir do de gene mitocondrial COI.

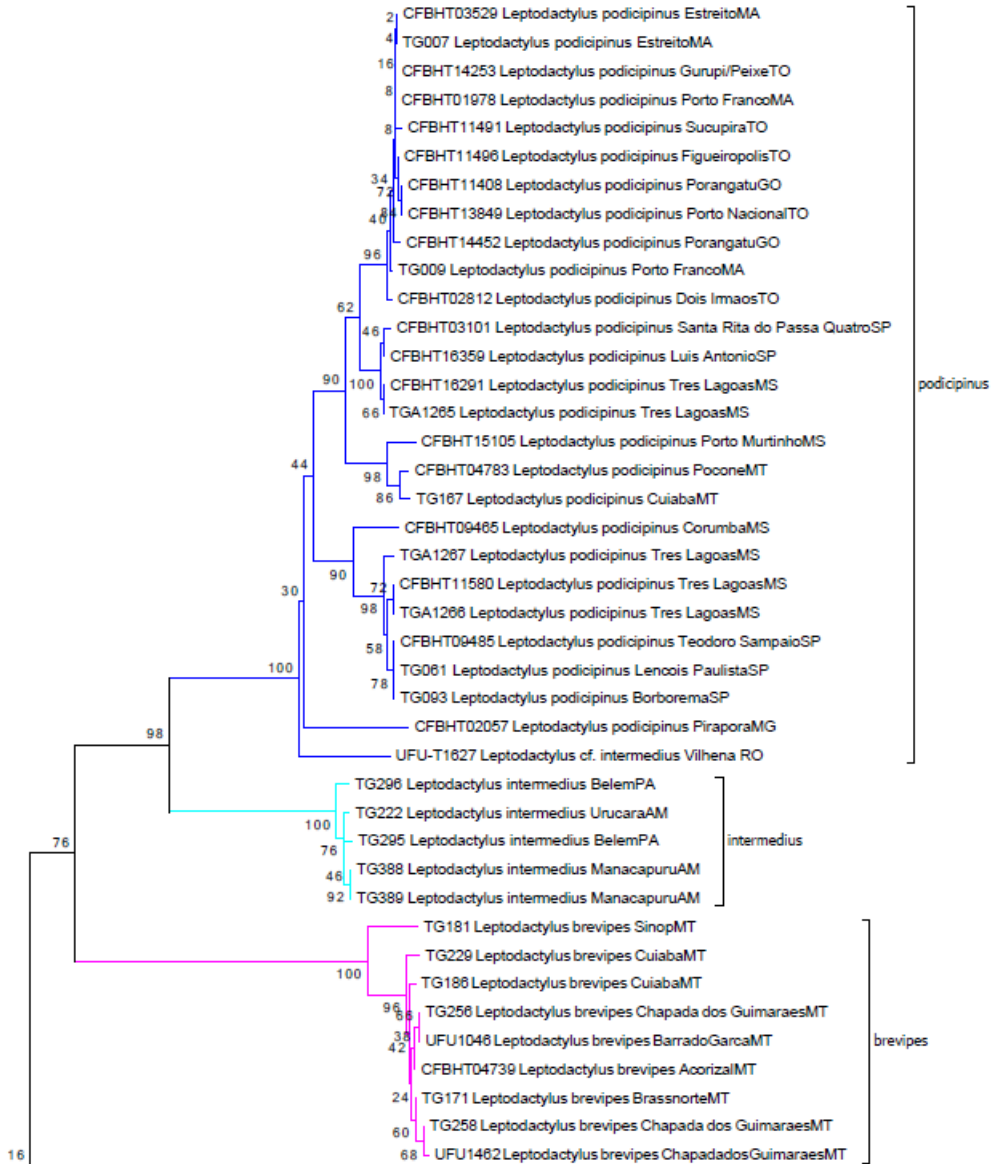


Figura 32 (continuação) – Reconstrução filogenética de espécies do clado *Leptodactylus melanonotus* a partir do de gene mitocondrial COI.

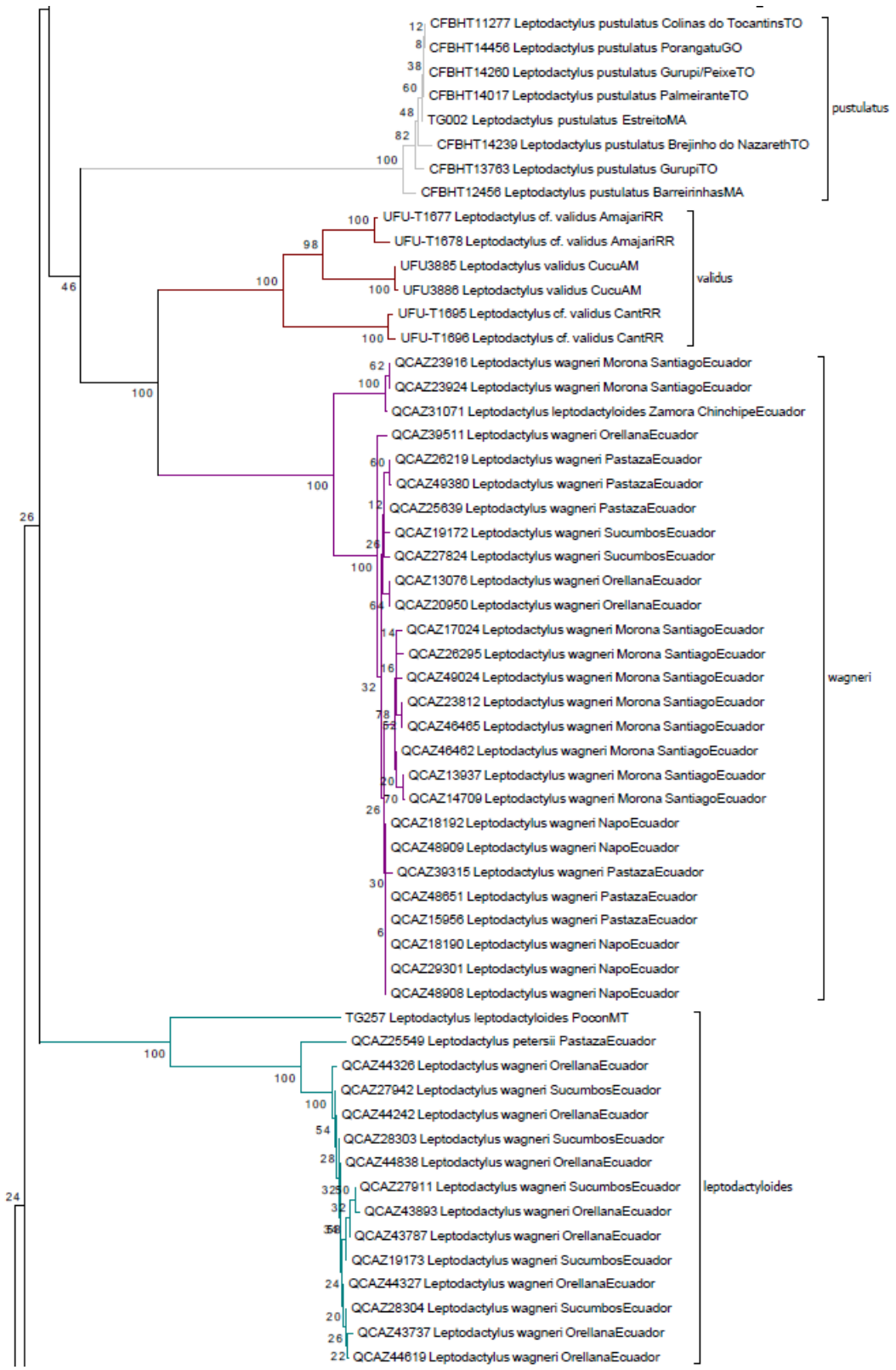
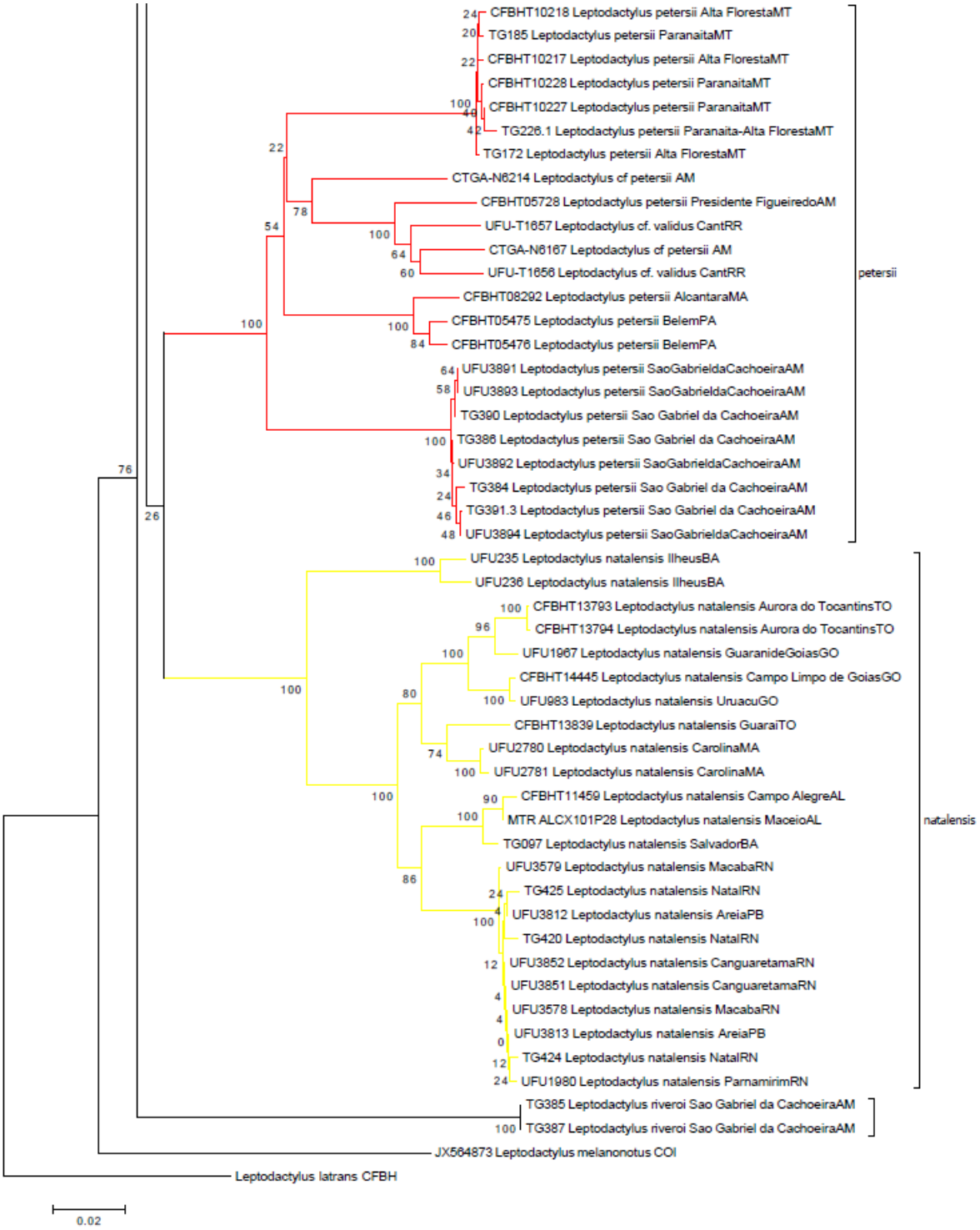


Figura 32 (conclusão) – Reconstrução filogenética de espécies do clado *Leptodactylus melanonotus* a partir do de gene mitocondrial COI.



Fonte: enviada pela Dra. Mariana Lyra

4.4 Diversidade críptica e padrões de diferenciação fenotípica e genética: estudo de caso em *Leptodactylus cunicularius*

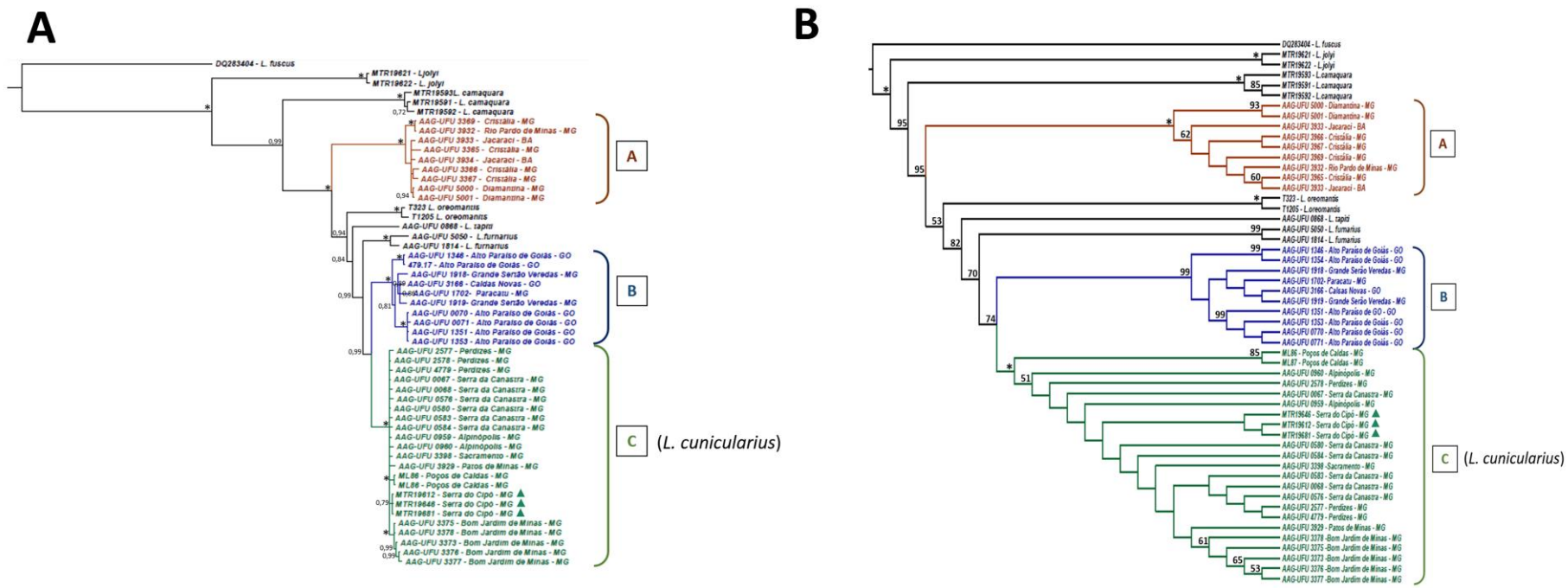
Leptodactylus cunicularius é uma espécie do clado *L. fuscus*, cuja distribuição está restrita a regiões com relevo acidentado e altitude moderada/grande (SAZIMA; BOKERMANN, 1978; HADDAD et al., 1988; HEYER et al.; 2008). Com base no padrão de distribuição disjunta de suas populações e restrição de habitat, o autor desse estudo propôs uma revisão taxonômica da distribuição conhecida para a espécie naquele momento, que culminou em sua dissertação (CARVALHO, 2012). Os resultados revelaram diferenças expressivas em parâmetros acústicos e padrões de coloração dorsal, especialmente para populações do centro-oeste do Brasil. Os espécimes oriundos dessa região foram reconhecidos como uma espécie ainda não descrita, mas sem a formalização taxonômica de descrição da espécie.

As populações amostradas foram preliminarmente identificadas como *L. cunicularius* pelo conjunto de características de coloração (padrão variegado de coloração dorsal), morfologia (tamanho e compleição corpórea) e vocalização (padrão trinado) (SAZIMA; BOKERMANN, 1978; HEYER et al., 2008; CARVALHO, 2012; CARVALHO et al., 2013). Através de uma abordagem integrativa, em que foi possível a inclusão de dados moleculares e aumentar as regiões de coleta, a espécie nominal (*L. cunicularis*) foi redelimitada, assim como foi possível a reavaliação do *status* taxonômico das populações do centro-oeste do país com padrões de coloração e vocalização distintos (sensu CARVALHO, 2012), e ainda revelar uma linhagem com alta divergência genética em relação a *L. cunicularius* da região norte do Espinhaço (norte de Minas Gerais e sul da Bahia), mas morfológica e acusticamente críptica à espécie nominal.

A reconstrução filogenética recuperou três clados (A-C) com alto suporte em ambos os modelos de parcimônica ($\geq$ 75%; Figura 33A) e bayesiana ($\geq$ 0.98; Figura 33B) a partir de populações até então atribuídas ao nome *L. cunicularius*. O clado A está restrito à porção central e meridional da cadeia do Espinhaço (MG e BA), enquanto o clado C compreende as populações do setentrional do Espinhaço (incluindo a localidade tipo da espécie: Serra do Cipó, Minas Gerais) e várias outras cadeias montanhosas de Minas Gerais (Mantiqueira, Canastra e regiões de influência no sudoeste e oeste do estado; Figura 34). O clado B recuperou as populações do centro-oeste (GO) e noroeste de Minas Gerais (Figura 34). As inter-relações entre os três clados e entre eles e outras espécies foram congruentes dentre os

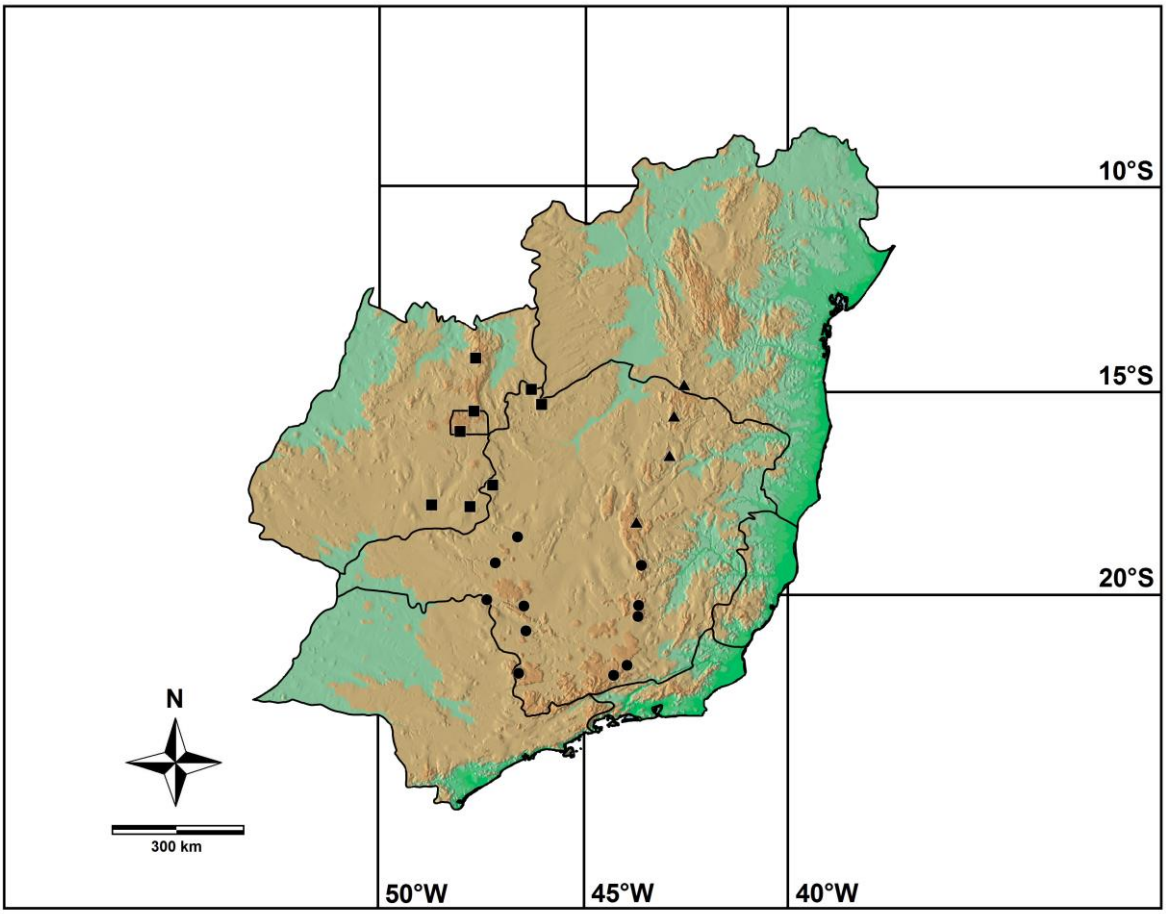
dois modelos de reconstrução (Figura 33), com o posicionamento de *L. furnarius*, *L. tapiti*, and *L. oreomantis* como espécies mais próximas filogeneticamente do clado B+C, separando-o do clado A.

Figura 33 – Reconstruções filogenéticas de populações atribuídas a *Leptodactylus cunicularius* (clados A-C) baseadas no fragmento H1 (16S rDNA) por critérios de parcimônia (A), com valores de bootstrap superiores a 50% sobre os nós, e assinalados com "*" para valores iguais a 100%; e bayesiana (B), com valores de probabilidades posteriores superiores a 0,7 sobre os nós, e assinaladas com "*" para valores iguais a 1,0. Topótipos foram indicados por triângulo (clado A).



Fonte: enviada pela MsC. Karin R. Seger.

Figura 34 – Distribuição das populações previamente atribuídas a *Leptodactylus cunicularius* (clados A-C) sobre um mapa topográfico. Círculos (clado C; contém topótipos de *L. cunicularius*); quadrados (clado B); triângulos (clado A).



Fonte: elaborada pelo autor.

Dois padrões de coloração dorsal foram identificados: i) padrão variegado (sensu HEYER et al., 2008), que pode ser definido por uma série de pintas e manchas escuras distribuídas ao longo do dorso, dando um aspecto liquenoso ou críptico (Figura 35); ii) padrão de marmoreado, que é formado por algumas manchas irregularmente distribuídas sobre o dorso de cor que varia do creme ou cinza claro, vermelho alaranjado (tijolo/ferrugem) até um tom bronzeado (Figura 35). Dois clados (A e C) apresentaram o padrão variegado, enquanto o clado B apresentou padrão marmoreado. Acusticamente, os três clados compartilham o padrão trinado de vocalização (vide CARVALHO et al., 2013). Todavia, em concordância com as diferenças em coloração dorsal, os cantos de anúncio de populações de clado B divergiram dos cantos das populações dos clados A e C pelo número cantos por trinado e pela taxa de repetição dos cantos (Figura 36): clado B possui um trinado mais curto (tipicamente < 15 cantos por trinado: < 1 s) e rápido (tipicamente > 30 trinados/min.); enquanto os clados A e C emitem um trinado mais longo (> 20 cantos por trinado: > 1s) e lento (tipicamente < 20 trinados/min.).

Em contraste aos padrões de coloração dorsal e vocalizações nos clados, as inter-relações e distâncias gênicas foram divergentes a essas evidências fenotípicas. O clado A aparece mais distante dos clados B e C, e outras espécies com padrões morfológicos e/ou acústicos (*L. furnarius*, *L. oreomantis* e *L. tapiti*; vide CARVALHO et al., 2013) foram recuperados como mais próximos ao clado B+C. Ainda assim, não houve qualquer discriminação entre os clados A e C a partir das características de coloração e canto descritas acima. Não obstante, o clado A apresentou distâncias gênicas (DNA_{mt} 16S) de quase 5% dos outros dois clados. Por sua vez, os clados irmãos (B e C), tiveram evidências fenotípicas suficientes a ponto de serem reconhecidas como espécies distintas, mas com distâncias gênicas (DNA_{mt} 16S) baixas (< 2%).

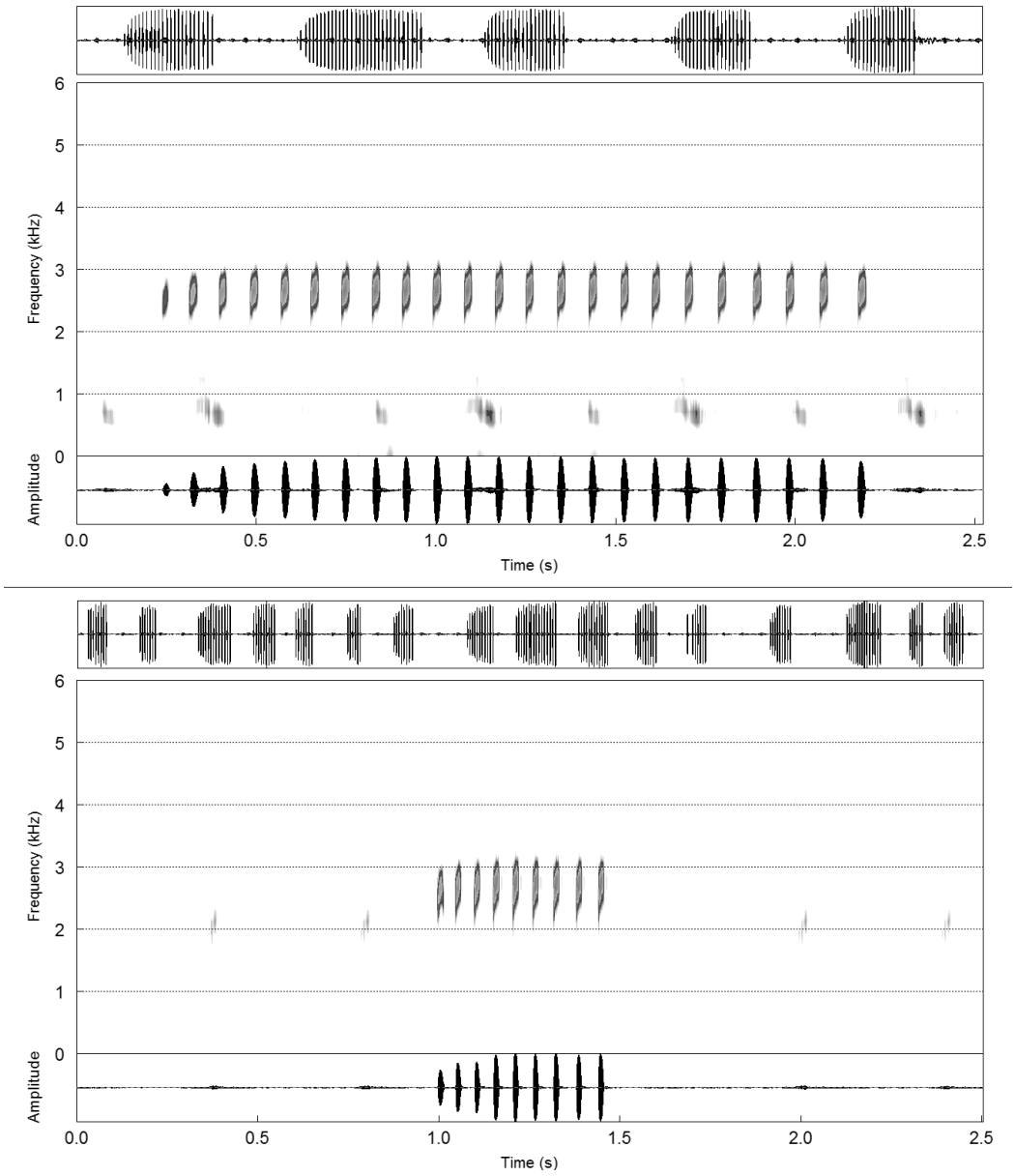
A partir dos resultados obtidos aqui, é possível assumir que o clado A represente uma espécie críptica em relação à espécie nominal *L. cunicularius* (contida no clado C), e clado B represente outra espécie nova, essa intimamente relacionada a *L. cunicularius*, mas com diferenciação fenotípica reconhecida. Essa proposição resolve o problema do monofiletismo entre os clados atribuídos a *L. cunicularius*. Em uma proposição alternativa e muito mais conservadora, assumindo-se que os três clados representassem uma única espécie, teria também que se assumir que as três espécies mais proximamente relacionadas a *L. cunicularius* (clado C) e *L.* aff. *cunicularius* do estado de Goiás (clado B) fossem coespecíficas à espécie nominal *L. cunicularius*. Contudo, além das evidências genéticas, há

outras evidências contundentes que suportam a diagnose de *L. furnarius*, *L. oreomantis* e *L. tapiti* em relação a *L. cunicularius*, como tamanho e vocalização (Tabelas 2 e 4; Figuras 8 e 10). Vide Carvalho et al. (2013) para diagnoses e comparações dessas espécies.

Figura 35 – Padrão de coloração dorsal em espécimes representantes (machos adultos) dos três clados de *Leptodactylus cunicularius*. De cima para baixo: clado A, padrão variegado (AAG-UFU 0069; CRC 37,4 mm; São Roque de Minas, MG); clado B, padrão marmoreado (AAG-UFU 0770; CRC 42,3 mm; Alto Paraíso de Goiás, GO); clado C, padrão variegado (AAG-UFU 5002; SVL 38.7 mm; Diamantina, MG).

Fonte: elaborada pelo autor.

Figura 36 – Vocalizações de um topótipo de *Leptodactylus cunicularius* (Serra do Cipó, MG; figura superior) e um indivíduo do clado B (Caldas Novas, GO; figura inferior) evidenciando as diferenças na taxa de emissão dos trinados (5 e 16 trinados em 20 s, respectivamente) e número de cantos por trinado (23 e 9 cantos/trinado, respectivamente). Seções de 20 segundos correspondentes às gravações desses indivíduos; espectrogramas respectivos oscilogramas de um trinado (= canto de anúncio) extraído dessas seções.

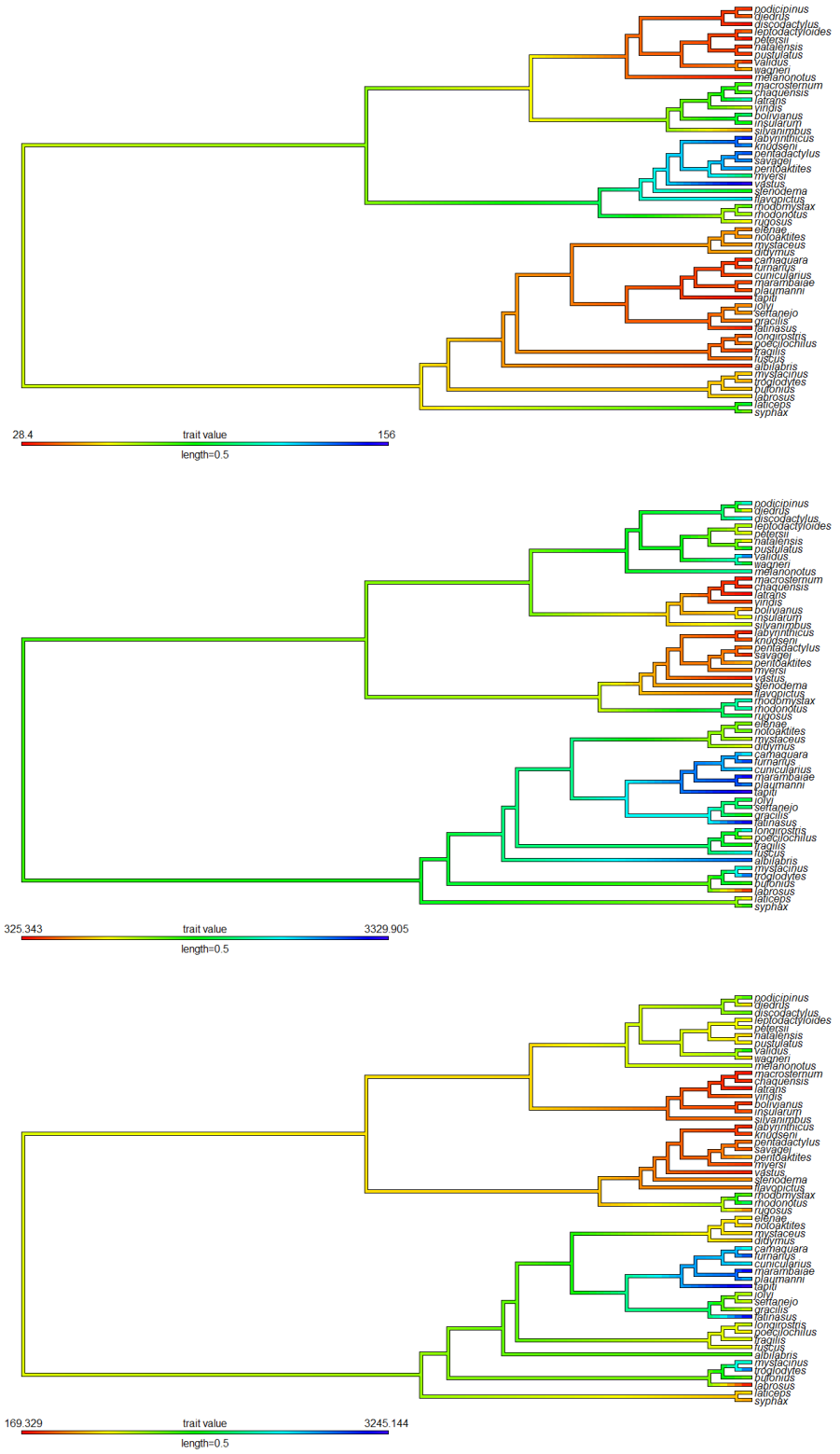


Fonte: elaborada pelo autor.

4.5 Padrões macroevolutivos dos sinais acústicos em *Leptodactylus*

Em um contexto multivariado, foi detectado sinal filogenético para o conjunto de variáveis acústicas quantitativas com alta significância (K_{mult} = 0,163; p = 0,001). Na análise de sinal filogenético por variável, o tamanho (CRC) e as três variáveis espectrais do canto (Figura 37) tiveram sinal filogenético significativo ($p < 0,05$) através do método "K" (vide Tabela 8). Nas análises de correlação (PGLS) entre variáveis espectrais e o tamanho corporal, as três variáveis analisadas se correlacionaram negativa e significativamente com o CRC (vide Tabela 9 para uma síntese dos resultados estatísticos). Comparando os dois modelos evolutivos de mudanças evolutivas das variáveis contínuas, BM e O-U diferiram significativamente para o CRC e todas as variáveis acústicas. Em todos os casos, o método O-U apresentou o melhor ajuste (Tabela 10).

Figura 37 – Mapeamentos dos três caracteres contínuos com os maiores valores de sinal filogenético (vide Tabela 7) na filogenia adaptada de *Leptodactylus*. De cima para baixo: CRC (mm), frequência dominante (Hz) e frequência fundamental (Hz).



Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 8 – Estatística descritiva das análises de sinal filogenético por variável. Variáveis: comprimento rostro-cloacal (CRC); duração total do canto (DC1); duração do canto de 10-10% amplitude (DC2); pico relativo de amplitude do canto (PA); modulação linear de frequência (MLF); frequência dominante (FD); frequência fundamental (FF). Descritores estatísticos: K (K de Blomberg); λ (lambda de Pagel); logL (log-verossimilhança); p (valor de p). * p < 0,0001

VARIÁVEIS	**PARÂMETROS**				
	K de Blomberg		**Lambda de Pagel**		
	K	**p**	**λ**	**logL**	**p**
CRC	0,60	0,001	0,99	-232,0	*
DC1	0,06	0,529	$6,73\times10^{-5}$	-17,80	1,000
DC2	0,06	0,494	$6,73\times10^{-5}$	-17,90	1,000
PA	0,08	0,114	0,12	-223,1	0,236
MLF	0,09	0,032	0,42	-413,4	1,000
FD	0,16	0,001	0,82	-433,3	*
FF	0,22	0,001	0,86	-427,2	*

Fonte: elaborada pelo autor.

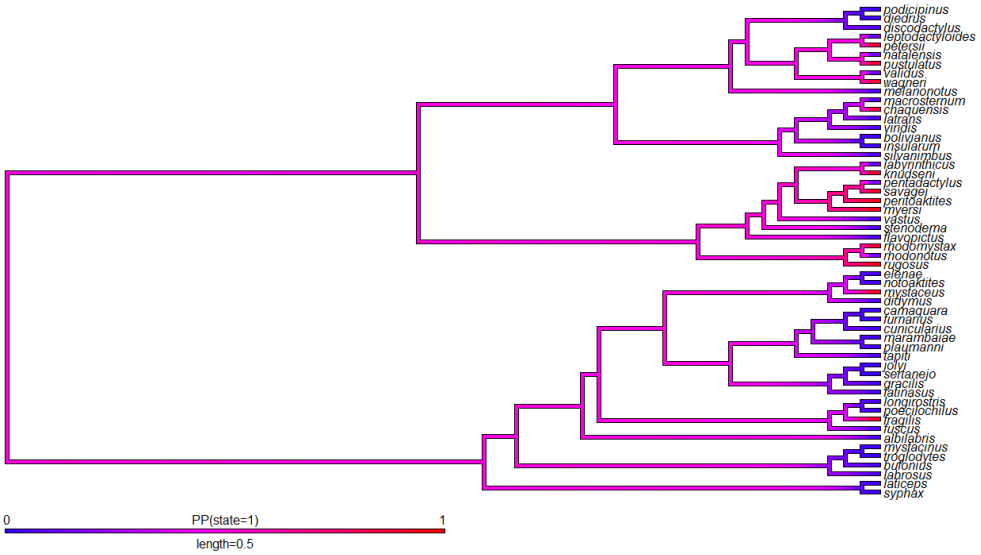
Tabela 9 – Sumário dos resultados das análises de correlação filogenética (PGLS) entre o tamanho corporal e variáveis espectrais do canto. Variáveis: comprimento rostro-cloacal (CRC); modulação linear de frequência (MLF); frequência dominante (FD); frequência fundamental (FF). Descritores estatísticos: F (valor de F com seus respectivos G.L.); p (valor de p); EP (erro padrão residual sobre os 22 G.L.); R^2_m (R^2 múltiplo); R^2_{aj} (R^2 ajustado); * p < 0,0001.

VARIÁVEIS	**PARÂMETROS ESTATÍSTICOS**				
	$F_{1,52}$	**p**	**EP**	R^2_m	R^2_{aj}
CRC x MLF	8,999	0,004	40,97	0,15	0,13
CRC x FD	43,340	*	31,71	0,45	0,44
CRC x FF	14,140	0,0004	38,92	0,21	0,20

Fonte: Elaborada pelo autor

Para o caráter qualitativo “pulsos” (presença vs. ausência), não houve sinal filogenético significativo (Tabela 11). Quando os dois modelos evolutivos (ER e ARD) foram confrontados para esse caráter, houve diferença altamente significativa (Tabela 11), com o modelo ARD se ajustando melhor. O mapeamento do caráter “pulso” indica surgimentos independentes de estrutura pulsada em todos os clados de *Leptodactylus*. O aparecimento de pulsos dentro de cada um dos clados também apareceu em alturas diferentes dos clados e se fixou em mais espécies do clado *L. pentadactylus* (Figura 38).

Figura 38 – Densidade posterior do mapeamento estocástico sobre o caráter “pulsos” (ausência: 0; presença: 1).



Fonte: elaborada pelo autor.

Tabela 10 – Resultado dos ajustes aos modelos evolutivos para tamanho corporal e variáveis acústicas. Modelos evolutivos: BM (Browniano); O-U (Ornstein-Uhlenbeck). Variáveis: comprimento rostro-cloacal (CRC); duração total do canto (DC1); duração do canto de 10-10% amplitude (DC2); pico relativo de amplitude do canto (PA); modulação linear de frequência (MLF); frequência dominante (FD); frequência fundamental (FF). Descritores estatísticos: α (valor de alfa); σ² (valor de sigma²); lnL (estimador de máxima verossimilhança); AIC (critério de Akaike); AICc (critério de Akaike corrigido); χ^2 (teste qui-quadrado); p (valor de p).

	MODELOS EVOLUTIVOS									**χ^2**
	BM				**O-U1**					**BM x O-U**
	σ²	**lnL**	**AIC**	**AICc**	**α**	**σ²**	**lnL**	**AIC**	**AICc**	**p**
CRC	0,667	-4,84	13,67	13,91	1,87	0,823	-3,11	12,22	12,70	0,06
DC1	23,864	-101,41	206,82	207,06	2,72	26,175	-93,64	193,29	193,77	< 0,0001
DC2	24,854	-102,51	209,02	209,25	2,72	27,266	-94,75	195,50	195,98	< 0,0001
PA	1,735	-30,633	65,27	65,50	2,72	1,962	-23,70	53,39	53,87	0,0002
MLF	17,959	-93,74	191,47	191,71	2,72	20,587	-87,16	180,32	180,80	0,0003
FD	3,479	-49,42	102,84	103,08	2,72	4,129	-43,79	93,57	94,05	0,001
FF	3,693	-51,03	106,06	106,29	2,72	4,477	-45,97	97,93	98,41	0,001

Fonte: Elaborada pelo autor

Tabela 11 – Pareamentos dos ajustes aos modelos evolutivos para dados discretos. Modelos evolutivos: ER (*Equal-Rates model*); ARD (*All-Rates-Different model*). Caracteres (estados do caráter): pulsos, PUL (presença vs. ausência). Descritores estatísticos: logL (log-verossimilhança); AIC (critério de Akaike); AICc (critério de Akaike corrigido); χ^2 (teste qui-quadrado); p (valor de p).

	SINAL FILOGENÉTICO	**MODELOS EVOLUTIVOS**						**χ^2**
		ER			**ARD**			**ER vs. ARD**
	p	**logL**	**AIC**	**AICc**	**logL**	**AIC**	**AICc**	**p**
PUL	0,633	-37,09	76,18	76,26	-28,60	61,21	61,44	< 0,0001

Fonte: Elaborada pelo autor

5 DISCUSSÃO

5.1 Recaracterização acústica, reavaliação das diagnoses de espécies e mudanças taxonômicas futuras

No clado *L. fuscus*, padrões distintos foram observados: i) complexos de espécies morfologicamente crípticas reconhecidas por suas vocalizações (complexo de *L. mystaceus*); ii) espécies reconhecidas por morfologia, tamanho e padrões de coloração distintos e vocalizações muito similares (espécies com canto trinado; Carvalho et al., 2013); e iii) espécies candidatas, totalmente crípticas fenotipicamente, com alta diversidade genética e distribuição alopátrica/parapátrica. Nesse último caso, um estudo caso para populações atribuídas a *L. cunicularius* revelaram padrões constrastantes de diversidade fenotípica e genética em diferentes linhagens (vide seção 4.5). No momento em que a integração dos dados genéticos e fenotípicos for possível para uma parcela maior dos morfótipos e padrões acústicos analisados, é factível que mais casos de diversidade críptica sejam revelados nesse clado.

Para o clado de *L. melanonotus*, quanto aos dados acústicos disponíveis para *L. griseigularis*, é possível observar uma modulação ascendente na frequência que não foi detectada nas quantificações automatizadas. De fato essa gravação está com entrada sonora muito baixa e parte da estrutura do canto pode não ter sido gravada apropriadamente. A ressalva para uma melhor caracterização acústica dessa espécie tange um problema de diagnose dela (HEYER, 1994) em relação a *L. leptodactyloides*. Embora esse autor tenha discriminado as espécies por padrões de coloração, após a análise de espécimes de *L. leptodactyloides* do Equador, não se obteve nenhuma distinção clara entre essas espécies com base em características morfológicas, morfométricas e de coloração. Os poucos cantos analisados para essa espécie peruana, todavia, são muito distintos espectralmente em comparação com cantos de *L. leptodactyloides*. Temporalmente, o padrão analisado se assemelhou ao das vocalizações de curta duração de *L. leptodactyloides* e *L. natalensis*. Gravações adicionais associadas a morfótipos serão necessárias para uma melhor caracterização dessa espécie no clado *L. melanonotus*.

Os padrões acústicos de *L. chaquensis* e *L. latrans-L. macrosternum* (clado *L. latrans*) foram identificados como distintos entre si, mas o acesso a gravações com boa qualidade a ponto de ser possível realizar quantificações automatizadas é raro, que devem

representar as espécies ou mesmo o clado mais desafiador no campo em termos de obtenção de dados acústicos. Os machos dessas espécies podem emitir cantos com amplitude muito baixa de difícil gravação. Em fenômenos de pico reprodutivo explosivo após chuvas torrenciais, é possível ouvir muitos indivíduos vocalizando expostos e com maior amplitude sonora, quando, paradoxalmente, ou não é possível fazer gravações individualizadas dos machos vocalizando, ou dezenas de outras espécies também estão em atividade de vocalização intensa num contexto reprodutivo explosivo (CARVALHO, observação pessoal). Por esse motivo, simplesmente não é possível se planejar para gravações em campo na maior parte das vezes. Outro fenômeno interessante é que essas espécies ocorrem em sintopia em várias regiões do país. Os nossos resultados parciais mostraram que existe uma diferenciação acústica entre as populações atribuídas a *L. latrans*-*L. macrosternum* do litoral e do interior do Brasil. Os resultados das análises acústicas também apontaram para o fato de que as populações amazônicas desse complexo possam corresponder a *L. chaquensis* (ou espécie afim) e não *L. macrosternum* como tem sido reportado convencionalmente (DE LA RIVA et al., 2000; TÁRANO, 2010), cujo canto parece ser correspondente a um dos padrões acústicos de *L. latrans* reconhecidos aqui. De qualquer forma, os vários de padrões fenotípicos, somados à dificuldade de acesso aos dados acústicos e complexidade de padrões de distribuição nos mostram o quanto o conhecimento em relação a esse clado de *Leptodactylus* ainda é limitado (HEYER, 2014). A integração de dados moleculares e uma melhor amostragem populacional, focando particularmente na delimitação específica de *L. macrosternum*, possibilitaria a resolução de problemas taxonômicos nesse clado.

No clado *L. pentadactylus*, os dados preliminares indicam que a diagnose acústica do par de espécies *L. labyrinthicus*-*L. vastus* (HEYER, 2005; JANSEN; SCHULZE, 2012) são, na verdade, fracamente suportadas e que os padrões de distribuição delas devem ser reavaliadas com a intregração de outras linhas de evidência. A obtenção de dados na região de contato entre essas duas espécies (vide mapas de distribuição para esse par de espécies em HEYER, 2005; DE SÁ et al., 2014), e mais dados para *L. paraenses*, uma espécie fenotipicamente similar às duas supracitadas, podem auxiliar na redefinição das espécies de grande porte que ocupam as áreas abertas do Brasil.

No clado *L. melanonotus*, o padrão acústico para *Leptodactylus petersii*, composto por dois tipos divergentes de sinal acústico, necessita de mais estudos para atribuição de contexto e se um nome apenas deve abrigar populações com padrões tão distintos de vocalização. É conhecida para esse grupo a presença de repertórios vocais complexos

contendo sequências compostas de cantos muito diferentes entre si (HEYER; CARVALHO, 2000; BRANDÃO; HEYER, 2005; AMORIN et al., 2009). O contexto atribuído a esse comportamento acústico é muitas vezes de interação coespecífica entre machos. No caso específico de *L. petersii*, os dois padrões acústicos divergentes são emitidos a taxas regulares, sem evidências de que os machos estão interagindo entre si. Portanto, a despeito da complexidade estrutural e de emissão de notas ser atribuída a contexto agressivo no grupo, os dois tipos de sinal acústico reportados para *L. petersii* nesse estudo não correspondem exatamente a emissões nesse contexto e necessita de investigações futuras para entendimento dos contextos e funções da alternância entre padrões acústicos na espécie.

A reconstrução filogenética preliminar para o clado *L. melanonotus* (Figura 32) também confirmou os padrões de distribuição de *L. brevipes* e *L. natalensis*, que já tinham sido apontados previamente pelas análises morfológicas e acústicas do presente estudo. Como já descrito nesse estudo, são espécies similares em padrões de coloração, diferenciadas por estados de caráter distintos para faixa labial e vocalizações. Enquanto *L. brevipes* está associado ao estado ao estado do Mato Grosso (Chapada dos Guimarães, centro do estado e associado à região de influência do rio Araguaia), *L. natalensis*, além da distribuição reconhecida até o presente momento para a Mata Atlântica costeira desde o Rio Grande Norte até o Rio de Janeiro (vide HEYER; HEYER, 2006), também está distribuido ao longo do Cerrado do sudeste e norte do país (desde Minas Gerais até o Maranhã e Ceará), que parece ser o ponto de conexão entre populações atlânticas e do interior do país. As populações do clado *L. melanonotus* que ocorrem no Cerrado do centro-oeste e norte do país devem ser tratadas como *L. natalensis*, e os nomes *L. leptodactyloides* e *L. petersii* aplicados somente a populações amazônicas. A partir de material examinado em coleções, é possível inferir, levando em conta os morfótipos reconhecidos e redefinições das espécies do clado *L. melanonotus*, que *L. petersii* esteja amplamente distribuído na Amazônia brasileira, enquanto *L. leptodactyloides* ocorre apenas nas regiões mais a oeste no país, nos estados do Amazonas, Acre, Rondônia e Mato Grosso.

A respeito da revisão taxonômica de *L. petersii*, será possível propor a revalidação dos dois sinôminos juniores dessa espécie (*L. brevipes* e *L. intermedius*), sendo os próximos passos a redescrição dos padrões fenotípicos para as três espécies e outras espécies relevantes para as redefinições das diagnoses e delimitações específicas; a avaliação da necessidade de se designar um neótipo para *L. petersii*, para a qual não existe atualmente uma associação a um espécime tipo, pois o único tipo da descrição original está perdido

(HEYER, 1970; HEYER, 1994); a necessidade de se fazer o mesmo para *L. intermedius*, mesmo que a série sintípica ainda exista fisicamente e implicaria na designação de lectótipo, pois não há informações suficientes para decisões taxonômicas no material em péssimo estado de preservação e sem correspondência entre etiquetas e síntipos (o único com correspondência é um juvenil, do qual seria impossível abstrair as informações necessárias para identificação desse espécime além do clado ao qual pertence).

5.2 Padrões de evolução acústica em *Leptodactylus*

Para dados contínuos, além de um alto sinal filogenético multivariado para os caracteres acústicos e para o tamanho corporal, uma tendência evolutiva apareceu para todos os caracteres testados separadamente através do parâmetro K de Blomberg (Tabela 7). As variações de tamanho nos clados (dentro deles e entre eles) são marcantes nos clados de *Leptodactylus*. Tendências evolutivas fortes para o tamanho corporal recuperaram os maiores clados desse táxon. Todos os caracteres contínuos testados tiveram melhor ajuste ao modelo Ornstein-Uhlenbeck, no qual se espera que exista uma força seletiva estabilizadora no sistema, podem ser associados a possíveis *constraints* morfofisiológicos. Assim, é possível considerar que existam restrições morfológicas, fisiológicas e energéticas atuando como força estabilizadora desses caracteres, além de uma possível inércia filogenética em caracteres acústicos nesse táxon, e pressões seletivas mantenedoras de características conservadas na história evolutiva de *Leptodactylus*.

Nas correlações entre variáveis acústicas e CRC, as três variáveis espectrais do canto (frequência fundamental, frequência dominante e modulação de frequência) se correlacionaram significativamente com o tamanho em *Leptodactylus*. Essa correlação negativa entre tamanho e frequência é esperada do ponto de vista morfológico (MARTIN, 1972) e segue o padrão descrito anteriormente em outros estudos (GERHARDT; HUBER, 2002; GINGRAS et al., 2012), mesmo levando em conta dependência filogenética entre as espécies. Além disso, é importante ressaltar que a força seletiva atuando contra a variabilidade (seleção estabilizadora) pode estar intimamente relacionada às propriedades estáticas acústicas, principalmente caracteres espectrais e microtemporais, que são identificadas em anuros como importantes parâmetros para o reconhecimento específico em sistemas vocais de comunicação (GERHARDT; HUBER, 2002; WELLS, 2007). Ainda que haja uma correlação (negativa) significativa entre características espectrais do canto e tamanho nesse táxon, há um

fenômeno acústico interessante e recorrente em diferentes clados de *Leptodactylus*, em que tamanhos (CRC) e frequências dos cantos tem certo grau de incompatibilidade. Espécies pequenas, como *L. caatingae*, tem a frequência de seu canto muito mais baixa do que a frequência de espécies grandes do clado (p. ex., *L. cupreus* e *L. mystacinus*), e espécies filogeneticamente próximas e muito semelhantes em morfologia e tamanho, como *L. bufonius* e *L. troglodytes*, uma com frequência fundamental duas vezes maior que a outra. Estudos futuros associando morfologia vocal e comportamento acústico podem ser promissores para o entendimento de padrões e processos evolutivos relacionadas à mudança de características acústicas. A correlação negativa entre a modulação de frequência e o tamanho também é interessante do ponto de vista de biomecânica de produção de som. Estudos futuros podem testar experimentalmente a capacidade de modulação da frequência em espécies com tamanhos distintos.

O mapeamento do caráter discreto "pulsos" indicou aparecimentos convergentes dessa estrutura acústica em todos os clados de *Leptodactylus*. Interessantemente, pulsos apareceram em espécies com tamanho, morfologia e biologia distintas ao longo da árvore, além de ter sido mais bem ajustado a um modelo de taxas de evolução distintas entre os estados de caráter (ARD). Esses resultados suscitam estudos futuros sobre os processos subjacentes envolvidos no aparecimento e perda de pulsos no repertório vocal das espécies desse grupo, e da homologia mecanística na produção dessa característica acústica (MCLISTER et al., 1995; ROBILLARD et al., 2006). É importante ressaltar que os MCFs explorados nesse capítulo foram implementados com uma boa amostragem de táxons de *Leptodactylus* incluídas na filogenia utilizada (DE SÁ et al., 2014), mas a variação acústica intraespecífica de grande parte das espécies ainda está subestimada pela limitação do tamanho amostral. Com o acesso a mais informações fenotípicas para o grupo e a inclusão de outras espécies à filogenia, outras tendências evolutivas podem ser identificadas nesse táxon.

Dentre as espécies com canto ainda desconhecido, existem algumas que só são conhecidas da própria série tipo e/ou localidade tipo (p. ex., *L. hylodes* e *L. magistris*). Outras espécies (p. ex., *L. colombiensis*, *L. lauramiriamae* e *L. pascoensis*) são raras, de difícil identificação ou ainda podem ter atividade de vocalização muito restrita sazonalmente, sendo difícil de serem obtidas com boa qualidade de gravação. De qualquer forma, acredita-se que a amostragem acústica para espécies de *Leptodactylus* já é representativa, tanto em termos absolutos (algum tipo de dado acústico para aproximadamente 85% das 74 espécies reconhecidas até o presente momento) quanto em representatividade nos diferentes clados de

Leptodactylinae (Tabelas 2 e 3) na investigação de tendências evolutivas e caracteres acústicos nesse táxon. Espera-se que, com a melhor resolução taxonômica e sistemática e a melhor amostragem acústica intraespecífica para algumas espécies e clados de *Leptodactylus*, abordagens comparativas no estudo da evolução acústica nesse grupo possam ser aplicadas com mais precisão e mais passíveis de interpretações evolutivas, assim que a riqueza de espécies dos complexos de espécies e as inter-relações filogenéticas de *Leptodactylus* estejam mais bem estabelecidas.

6 REFERÊNCIAS

AMORIM, F. O.; SCHMALTZ-PEIXOTO, K. E.; ARAÚJO, L. C. S. S.; SANTOS, E. M. Temporada de turno de vocalização de *Leptodactylus natalensis* Lutz, 1930 (Amphibia, Anura) na Mata Atlântica de Pernambuco, Brasil. Papéis Avulsos de Zoologia, v. 49, n. 1, 2009.

AMPHIBIAN SPECIES OF THE WORLD: AN ONLINE REFERENCE, VERSION 6.0. Produced by Darrel R. Frost. American Museum of Natural History, New York. Disponível em: <http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibia/>. Acesso em: 10 jan. 2017.

BLOMBERG, S. P.; GARLAND, T.; IVES, A. R. Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile. **Evolution,** v. 57, n. 4, p. 717-745, 2003.

BOKERMANN, W. C. A. Lista anotada de tipos de anfíbios brasileiros. **São Paulo: Serviço de Documentacão, Universidade Rural São Paulo**, 1966.

BOULENGER, G. A. On a collection of frogs from Yurimaguas, Huallaga River, Northern Peru. **Proceedings of the Zoological Society of London**, v. 1883, p. 635-638, 1884.

BRANDÃO, R. A.; HEYER, W. R. The complex calls of *Leptodactylus pustulatus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). **Amphibia-Reptilia**, v. 26, p. 566-570, 2005.

CARAMASCHI, U.; FEIO, R. N.; SÃO-PEDRO, V. A. A new species of *Leptodactylus* Fitzinger (Anura, Leptodactylidae) from Serra do Brigadeiro, state of Minas Gerais, southeastern Brazil. **Zootaxa**, v. 1861, p. 44-54, 2008.

CARVALHO, T. R.; LEITE, F. S. F.; PEZZUTI, T. L. A new species of *Leptodactylus* Fitzinger (Anura, Leptodactylidae, Leptodactylinae) from montane rock fields of the Chapada Diamantina, northeastern Brazil. **Zootaxa**, v. 3701, n. 3, p 349-364, 2013.

CARVALHO, T. R.; RON, S. Advertisement call of *Leptodactylus labrosus* Jiménez de la Espada, 1875 (Anura, Leptodactylidae): an unusual advertisemement call within the *L. fuscus* group. **Herpetology Notes**, v. 4, p. 325-326, 2011.

CASSINI, C. S.; ORRICO, V. G. D.; DIAS, I. R.; SOLÉ, M; HADDAD, C. F. B. Phenotypic variation of *Leptodactylus cupreus* Caramaschi, São-Pedro and Feio, 2008 (Anura, Leptodactylidae). **Zootaxa**, 3616, p. 73-84, 2013.

COCROFT, R. B.; RYAN, M. J. Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs. **Animal Behaviour**, v. 49, n. 2, p. 283-303, 1995.

COPE, E. D. Synopsis of the Batrachia and Reptilia obtained by H. H. Smith, in the Province of Mato Grosso, Brazil. **Proceedings of the American Philosophical Society**, v. 24, p. 44-60, 1887.

DE LA RIVA, I.; KÖHLER, J.; LÖTTERS, S.; REICHLE, S. Ten year of research on Bolivian amphibians: distribution, taxonomic problems, literature and iconography. **Revista Española de Herpetología**, v. 14, p. 19-164, 2000.

DE SÁ, R. O.; HEYER, W. R.; CAMARGO, A. A phylogenetic analysis of *Vanzolinius* Heyer, 1974 (Amphibia, Anura, Leptodactylidae): taxonomic and life history implications. **Arquivos do Museu Nacional**, v. 63, n. 4, p. 707-726, 2005.

DE SÁ, R. O.; GRANT, T.; CAMARGO, A.; HEYER, W. R.; PONSSA, M. L.; STANLEY, E. Systematics of the Neotropical genus *Leptodactylus* Fitzinger, 1826 (Anura: Leptodactylidae): phylogeny, the relevance of non-molecular evidence, and species accounts. **South American Journal of Herpetology**, v. 9 (Special issue 1), p. S1-S128, 2014.

DUELLMAN, W. E. The hylid frogs of Middle America. **Monographs of the Museum of Natural History of the University of Kansas**, v. 2, n.1, p. 1-753, 1970.

FENÓLIO, D. B.; SILVA, N. J.; SILVA, N.J., JR. *Leptodactylus pustulatus* Peters, 1870 (Amphibia: Leptodactylidae): notes on habitat, ecology, and color in life. **Herptological Review**, v. 37, n. 2, p. 140-142, 2006.

FOUQUET, A.; BLOTTO, B. L.; MARONNA, M. M.; VERDADE, V. K.; JUNCÁ, F. A.; DE SÁ, R. O.; RODRIGUES, M. T. Unexpected phylogenetic positions of the genera *Rupirana* and *Crossodactylodes* reveal insights into the biogeography and reproductive evolution of leptodactylid frogs. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 67, n. 2, p. 445-457, 2013.

FRECKLETON, R. P.; HARVEY, P. H.; PAGEL, M. Phylogenetic analysis and comparative data: a test and review of evidence. **The American Naturalist**, v. 160, n. 6, p. 712-726, 2002.

The amphibian tree of life. **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 297, p. 1-371, 2006.

GALVARRO, C. U. S. Variación morfológica en un gradiente latitudinal en *Leptodactylus chaquensis* (Cei 1950). Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/282186719_Variacion_morfologica_en_un_gradiente_latitudinal_de_Leptodactylus_chaquensis>. 2015.

GAZONI, T. **Diversidade cariotípica e dados moleculares de *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae) e obtenção de sondas cromossomo-específicas de anfíbio por citometria de fluxo.** 2015. 85 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas, Biologia Celular e Molecular) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Rio Claro, 2015.

GERHARDT, H. C.; HUBER, F. **Acoustic communication in insects and anurans: common problems and diverse solutions**. Chicago and London: University of Chicago Press, 2002. 531 p.

GIARETTA, A. A.; COSTA, H. C. M. A redescription of *Leptodactylus jolyi* Sazima and Bokermann (Anura, Leptodactylidae) and the recognition of a new closely related species. **Zootaxa**, v. 1608, p 1-10, 2007.

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

GRAFEN, A. The phylogenetic regression. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences**, v. 326, p. 119-157, 1989.

GRIDI-PAPP, M. Soundruler: acoustic analysis for research and teaching. Disponível em: < http://soundruler.sourceforge.net/main/>. 2007.

HADDAD, C. F. B.; ANDRADE, G. V.; CARDOSO, A. J. Anfíbios anuros do Parque Nacional da Serra da Canastra, Estado de Minas Gerais. **Brasil Florestal**, v. 64, p. 9-20, 1988.

HACKATHON, R. et al. Phylobase: base package for phylogenetic structures and comparative data. Disponível em: < https://github.com/fmichonneau/phylobase>. 2016.

HARMON, L. J.; WEIR, J. T.; BROCK, C. D.; GLOR, R. E.; CHALLENGER, W. GEIGER: investigating evolutionary radiations. **Bioinformatics**, v. 24, n. 1, p. 129-131, 2008.

HEYER, W. R. The proper name for the type-species of the genus *Leptodactylus*. **Copeia**, v. 1968, n. 1, p. 160-162, 1968.

_____. Studies on the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae) III. A redefinition of the genus *Leptodactylus* and a description of a new genus of leptodactylid frogs. **Contributions in Science, Los Angeles County Natural History Museum**, v. 155, p. 1-14, 1969a.

_____. Studies on frogs of the genus Leptodactylus (Amphibia, Leptodactylidae). V. Taxonomic notes on *L. latinasus*, *rhodonotus*, *romani*, and *wuchereri*. **Herpetologica**, v. 25, n. 1, p. 1-8, 1969b.

_____. Studies on the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae) VI. Biosystematics of the *melanonotus* group. **Contributions in Science, Los Angeles County Natural History Museum**, v. 191, p. 1-48, 1970.

_____. *Vanzolinius*, a new genus proposed for *Leptodactylus discodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 87, n. 11, p. 81-90, 1974a.

_____. Relationships of the *marmoratus* species group (Amphibia, Leptodactylidae) within the subfamily Leptodactylinae. **Contributions in Science, Los Angeles County Natural History Museum**, v. 251, p. 1-45, 1974b.

_____. A preliminary analysis of the intergeneric relationships of the frog family Leptodactylidae. **Smithsonian contributions to zoology**, v. 199, p. 1-55, 1975.

_____. Systematics of the *fuscus* group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). **Science Bulletin, Los Angeles County Natural History Museum**, v. 29, p. 1-85, 1978.

_____. Systematics of the *pentadactylus* species group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia: Leptodactylidae). **Smithsonian Contributions to Zoology**, v. 301, p. 1-43, 1979.

_____.Clarification of the names *Rana mystacea* Spix, 1824, *Leptodactylus amazonicus* Heyer, 1978, and a description of a new species, *Leptodactylus spixi* (Amphibia: Leptodactylidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 96, p. 270-272, 1983.

_____. Variation within the *Leptodactylus podicipinus–wagneri* complex of frogs (Amphibia: Leptodactylidae). **Smithsonian contributions to Zoology**, v. 546, p. 1-124, 1994.

_____. Variation and taxonomic clarification of the large species of the *Leptodactylus pentadactylus* species group (Amphibia: Leptodactylidae) from Middle America, northern South America, and Amazonia. **Arquivos de Zoologia, Museu da Universidade de São Paulo**, v. 37, n. 3, p. 269-348, 2005.

_____. Morphological analyses of frogs of the *Leptodactylus latrans* complex (Amphibia, Leptodactylidae) from selected localities in South America. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 126, n. 4, p. 369-378, 2014.

HEYER, W. R.; CARVALHO, C. M. Calls and calling behavior of the frog *Leptodactylus natalensis* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 113, n. 1, p. 281-290, 2000.

HEYER, W. R.; DE SÁ, R. O.; MULLER, S. *Leptodactylus silvanimbus* (McCranie, Wilson, and Porras). **Catalogue of American Amphibians and Reptiles**, v. 743, p. 1-3, 2002.

HEYER, W. R.; DE SÁ, R. O. *Leptodactylus mystacinus* (Burmeister). **Catalogue of American Amphibians and Reptiles**, v. 767, p. 1-11, 2006.

HEYER, W. R.; DE SÁ, R. O. *Leptodactylus syphax* Bokermann. **Catalogue of American Amphibians and Reptiles**, v. 868, p. 1-9, 2010.

HEYER, W. R.; DE SÁ, R. O. Variation, systematics, and relationships of the Leptodactylus bolivianus complex (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). **Smithsonian Contributions to Zoology**, v. 635, p. 1-58, 2011.

HEYER, W. R.; GARCÍA-LOPEZ, J. M.; CARDOSO, A. J. Advertisement call variation in the *Leptodactylus mystaceus* (Amphibia: Leptodactylidae) species complex with a description of a new sibling species. **Amphibia-Reptilia**, v. 17, n. 1, p. 7-31, 1996.

HEYER, W. R.; GIARETTA. A. A. Advertisement calls, notes on natural history, and distribution of *Leptodactylus chaquensis* (Amphibia: Anura: Leptodactylidae) in Brasil. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 122, n. 3, p. 292-305, 2009.

HEYER, W. R.; HEYER, M. M. *Leptodactylus elenae* Heyer. **Catalogue of American Amphibians and Reptiles**, v. 742, p. 1-5, 2002.

HEYER, W. R.; HEYER, M. M. *Leptodactylus furnarius* Sazima and Bokermann. **Catalogue of American Amphibians and Reptiles**, v. 785, p. 1-5, 2004.

HEYER, W. R.; HEYER, M. M. *Leptodactylus natalensis* A. Lutz. **Catalogue of American Amphibians and Reptiles**, v. 808, p. 1-5, 2006.

HEYER, W. R.; HEYER, M. M.; DE SÁ, R. O. *Leptodactylus fragilis* (Brocchi). **Catalogue of American Amphibians and Reptiles**, v. 830, p. 1-26, 2006.

HEYER, W. R.; HEYER, M. M.; DE SÁ, R. O. *Leptodactylus cunicularius* Sazima and Bokermann. **Catalogue of American Amphibians and Reptiles**, v. 845, p. 1-5, 2008.

HEYER, W. R.; JUNCÁ, F. A. *Leptodactylus caatingae*, a new species of frog from eastern Brazil (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 116, 317-329, 2003.

HEYER, W. R.; PYBURN, W. F. *Leptodactylus riveroi*, a new frog species from Amazonia, South America. **Proceedings of the Biological Society of Washington**, v. 96, n. 3, p. 560-566, 1983.

HEYER, W. R.; RAND, A. S.; CRUZ, C. A. G.; PEIXOTO, O. L.; NELSON, C. E. Frogs of Boracéia. **Arquivos de Zoologia,** v. 31, n. 4, p. 231-410, 1990.

HEYER, THOMPSON, A. S. *Leptodactylus rugosus* Noble. **Catalogue of American Amphibians and Reptiles**, v. 708, p. 1-5, 2000.

JANSEN, M.; SCHULZE, A. Molecular, morphology and bioacoustic data suggest Bolivian distribution of a large species of the *Leptodactylus pentadactylus* group (Amphibia: Anura: Leptodactylidae). **Zootaxa**, v. 3307, p. 35-47, 2012.

KWET, A.; DI-BERNARDO, M.; GARCIA, P. C. A. The taxonomic status of *Leptodactylus geminus* Barrio, 1973. **Journal of Herpetology**, v. 35, n. 1, p 56-62, 2001.

LUTZ, A. Second paper on brasilian and some closely related species of the genus *Leptodactylus*. **Memórias do Intituto Oswaldo Cruz**, v. 23, n. 1, p. 21-34, 1930.

MADDISON, W.P. & MADDISON, D.R. Mesquite: a modular system for evolutionary analysis, version 3.04. Austin: Mesquite software. 2015.

MARTIN, W. F. Evolution of vocalization in the genus *Bufo*. In. BLAIR, W. F. (Ed.). **Evolution in the genus *Bufo***. Austin: University of Texas Press, 1972. cap. 15, p. 279-309.

MARTY, C.; GAUCHER, P. **Sound guide of tailess amphibians of French Guyana**. França: Centre Bioacoustique Alpin, 1999.

MATLAB: the language of technical computing, version 6.5.2. Natick: The MathWorks Inc. 2004.

McLISTER, J. D.; STEVENS, E. D; BOGART, J. P. Comparative contractile dynamics of calling and locomotor muscles in three hylid frogs. **Journal of Experimental Biology,** v. 198, p. 1527-1538, 1995.

ORME, D. et al. caper: comparative analysis of phylogenetics and evolution in R. Disponível em: < https://cran.r-project.org/web/packages/caper/caper.pdf> 2013.

PAGEL, M. D. Inferring the historical patterns of biological evolution. **Nature**, v. 401, p. 877-884, 1999.

PARADIS, E.; CLAUDE, J.; STRIMMER, K. APE: Analyses of Phylogenetics and Evolution in R language. **Bioinformatics**, v. 20, n. 2, p. 289-290, 2004.

PONSSA, M. L. Cladistic analysis and osteological descriptions of the frog species in the *Leptodactylus fuscus* species group (Anura, Leptodactylidae). **Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research**, v. 46, n. 3, p. 249-266, 2008.

PYRON, A. R.; WIENS, J. J. A large-scale phylogeny of Amphibia including over 2800 species, and a revised classification of extant frogs, salamanders, and caecilians. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 61, n. 2, p. 543-583, 2011.

R CORE TEAM. R foundation for statistical computing, version 3.2.2. Vienna, Austria. Disponível em: <http://www.R-project.org>. 2015.

REVELL, L. J. phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). **Methods in Ecology and Evolution**, v. 3, p. 217-223, 2012.

ROBILLARD, T.; HÖBEL, G; GERHARDT, H. C. Evolution of advertisement signals in North American hylid frogs: vocalizations as end-products of calling behavior. **Cladistics,** v. 22, n. 6, p. 533-545, 2006.

RYAN, M. J. Constraints and patterns in the evolution of anuran acoustic communication. In: FRITZSCH, B. (Ed.). **The evolution of amphibian auditory system**. New York: John Wiley and Sons, 1988. cap. 28, p. 637-677.

SAZIMA, I.; BOKERMANN, W. C. A. Cinco novas espécies de *Leptodactylus* do centro e sudeste brasileiro (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). Revista Brasileira de Biologia, v. 38, p. 899-912, 1978.

SCHLIEP, K. P. phangorn: phylogenetic analysis in R. **Bioinformatics**, v. 27, n. 4, p. 592-593, 2011.

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

TÁRANO, Z. Advertisement calls and calling habitats of frogs from a flooded savanna of Venezuela. **South American Journal of Herpetology**, v 5, n. 3, p. 221-240, 2010.

WATKINS, W. A. The harmonic interval: fact or artifact in spectral analysis of pulse trains. **Proceedings of the second symposium on marine bio-acoustics**, v. 2, p. 15-43, 1968.

WATTERS, J. L.; CUMMINGS, S. T.; FLANAGAN, R. L.; SILER; C. D. Review of morphometric measurements used in anuran species descriptions and recommendations for a standardized approach. **Zootaxa**, v. 4072, n. 2, p. 477-495, 2016.

WELLS, K. D. **The ecology and behavior of amphibians.** Chicago and London: The University of Chicago Press, 2007. 1148 p.

CONCLUSÃO FINAL

Dois padrões principais e contrastantes de diversidade fenotípica foram reconhecidos para espécies dos dois gêneros de Leptodactylinae do presente estudo (*Adenomera* e *Leptodactylus*): padrões crípticos de morfologia e/ou coloração associados a uma diversidade de padrões acústicos; e padrões distintos para morfologia e/ou coloração desacompanhados de diferenças acústicas expressivas. Um terceiro padrão foi encontrado para o complexo de *Leptodactylus cunicularius*, em que há linhagens com altos graus de diferenciação genética desacompanhada de quaisquer evidências fenotípicas. Esse estudo de caso em *L. cunicularius* reforça a importância de abordagens integrativas, especialmente importantes em estudos lidando com a biodiversidade na região Neotropical, para as quais análises mais compreensivas se fazem necessárias para o entendimento da diversidade críptica que por vezes é subestimada (BICKFORD et al., 2007; PADIAL et al., 2009).

Nos dois táxons desse estudo, o aparecimento convergente de modulações de amplitude, i.e., estrutura pulsada, pôde ser observado em pares de espécies proximamente relacionadas (morfologicamente crípticas), em espécies com tamanhos muito divergentes, em espécies que ocorrem em habitats diferentes. Em *Leptodactylus*, por exemplo, sinais acústicos pulsados foram identificados nos quatro clados principais desse táxon. Assumindo-se que não existe uma associação específica aos surgimentos e perdas desse caráter acústico, e que a produção de sinais vocais em Leptodactylinae seja homóloga, seria mais simples atribuir a esse fenômeno uma explicação comportamental, de modo que a biomecânica de produção de sons em todo grupo seja capaz de produzir padrões de modulação regular de amplitude. Por outro lado, outro fenômeno observado para espécies dos dois táxons vai de encontro com a hipótese de explicação comportamental: nas regressões filogenéticas, diferenças notáveis de tamanho em *Leptodactylus* foram preditoras de menores frequências em seus cantos, de acordo com a correlação negativa esperada entre essas variáveis (MARTIN, 1972). Mesmo levando isso em conta, há uma incompatibilidade entre essas variáveis para algumas espécies, particularmente espécies de pequeno porte com frequências consideravelmente baixas. Esse fenômeno pode ser uma evidência que, além de um componente comportamental envolvido na diversidade acústica, diferenças estruturais no aparto vocal poderiam explicar diferenças conspícuas em caracteres espectrais. Para o leptodactilío *Engystomops pustulosus*, por exemplo, demonstrou-se que estruturas específicas na laringe dessa espécie são as responsáveis pela produção de sinais acústicos

com frequência fundamental com a metade da frequência que de outro sinal acústico do repertório vocal dessa espécie (GRIDI-PAPP et al., 2006).

Em *Adenomera*, os padrões acústicos são peculiares às espécies desse táxon, de modo que todas as espécies atualmente reconhecidas podem ser reconhecidas através dessa linha de evidência. Esse padrão acentuado de diferenciação acústica nesse táxon ressalta a importância desse tipo de informação ser levada em conta na resolução de problemas taxonômicos futuros, incluindo as linhagens reconhecidas em Fouquet et al. (2014). Além disso, detectou-se nesse estudo que a frequência fundamental (1° harmônico) de algumas espécies de *Adenomera* tem posição relativa do segundo harmônico nas outras espécies, com implicações na distribuição de energia entre eles. Correlação com tamanho e associação com habitat não explicou esse fenômeno. A única relação observada foi entre a mudança da posição relativa da frequência fundamental sempre ocorrer em espécies com cantos não pulsados. Informações quanto à amplitude sonora podem ser esclarecedoras e o mecanismo chave na mudança da estrutura espectral em espécies desse táxon.

Em *Leptodactylus*, há uma riqueza de padrões acústicos em cada um dos clados propostos em De Sá et al. (2014), e, interessantemente, padrões recorrentes podem ser identificados para espécies em diferentes alturas da filogenia, esses associados a espécies com padrões morfológicos e tamanho muito distintos entre si. Esses resultados apontam para a hipótese de uma exaptação morfofisiológica, no sentido que ajustes no comportamento vocal (p. ex., conformação de estruturas da laringe) possam ser capazes de gerar padrões acústicos similares nessas espécies com morfologia e tamanho distintos (MARTIN, 1972; GRIDI-PAPP, 2014). Em contrapartida, as espécies de maior porte desse táxon (clados *L. latrans* e *L. pentadactylus*) parecem caminhar em direção a padrões acústicos mais estereotipados ao passo que se tornam maiores. Isso pode ser uma limitação como reflexo do próprio tamanho dessas espécies do ponto de vista biomecânico de produção de som. Os diferentes graus de modulação linear de frequência parece ser uma evidência do tamanho afetando no comportamento acústico ou na limitação dele.

Em suma, Leptodactylinae representa um grupo de anuros Neotropicais com diferentes padrões de diferenciação fenotípica e genética e ainda contém complexos de espécies que necessitam de atenção para o melhor entendimento da diversidade nesse táxon. Além disso, a riqueza de padrões acústicos, somados aos vários fenômenos e mudanças evolutivas relacionadas a eles, descritos no presente estudo, ressaltam o potencial desses

organismos como modelos promissores em estudos pautados nos padrões e processos macroevolutivos associados à comunicação vocal desse grupo de vertebrados.

REFERÊNCIAS

BICKFORD, D; LOHMAN, D J.; SODHI, N. J.; NG, P. K. L.; MEIER, R.; WINKER, K.; INGRAM, K. K.; DAS, I. Cryptic species as a window on diversity and conservation. **Trends in Ecology and Evolution**, v. 22, n. 3, p. 148-155, 2006.

DE SÁ, R. O.; GRANT, T.; CAMARGO, A.; HEYER, W. R.; PONSSA, M. L.; STANLEY, E. Systematics of the Neotropical genus *Leptodactylus* Fitzinger, 1826 (Anura: Leptodactylidae): phylogeny, the relevance of non-molecular evidence, and species accounts. **South American Journal of Herpetology**, v. 9 (Special issue 1), p. S1-S128, 2014.

FOUQUET, A.; CASSINI, C. S.; HADDED, C. F. B.; PECH, N.; RODRIGUES, M. T. Species delimitation, patterns of diversification and historical biogeography of the Neotropical frog genus *Adenomera* (Anura, Leptodactylidae). **Journal of Biogeography**, v. 41, n. 5, p. 855-870, 2014.

GRIDI-PAPP, M. Is the frequency content of the cals in North American treefrogs limited by their larynges? **International Journal of Evolutionary Biology**, v. 2014, p. 1-11, 2014

GRIDI-PAPP, M.; RAND, A. S.; RYAN, M. J. Animal communication: complex call production in the túngara frog. **Nature** v. 441, n. 7089, p. 38, 2006.

MARTIN, W. F. Evolution of vocalization in the genus *Bufo*. In. BLAIR, W. F. (Ed.). **Evolution in the genus *Bufo***. Austin: University of Texas Press, 1972. cap. 15, p. 279-309.

PADIAL, J. M.; CASTROVIEJO-FISHER, S.; KÖHLER, J.; VILÀ, C; CHAPARRO, J. C.; DE LA RIVA, I. Deciphering products of evolution at the species level: the need for an integrative taxonomy. **Zoologica Scripta**, v. 38, n. 4, p. 431-447, 2009.

APÊNDICE A – ESPÉCIMES EXAMINADOS

Adenomera ajurauna – BRASIL: SÃO PAULO: Santo André: Paranapiacaba (AAG-UFU 5024); *Adenomera andreae* – BRASIL: AMAZONAS: Manaus (INPA-H 34045, 34048, 34073–34074, 34076, 34081–34086; LHUFCG 0189, 0194, 0197–0204); PARÁ: Belém (AAG-UFU 2797–2798); Nova Timboteua (AAG-UFU 2788–2794); Porto Trombetas (MNRJ 52886–52887); EQUADOR (QCAZ 8271, 16637, 19213, 19226, 19229, 28047, 37766, 37803); *Adenomera bokermanni* – BRASIL: PARANÁ: Paranaguá (LHUFCG 0181–0186); *Adenomera cotuba* – BRASIL: BAHIA: São Desidério (AAG-UFU 5427–5429); GOIÁS: Teresina de Goiás (holótipo: AAG-UFU 1400; parátipos: AAG-UFU 0808, 1397–1399, 1401–1404); Minaçu (AAG-UFU 5052); TOCANTINS: Palmas (AAG-UFU 2643); Paranã (AAG-UFU 2823–2824); *Adenomera diptyx* – BRASIL: MATO GROSSO: Barra do Garças (AAG-UFU 5003–5004); Cáceres (AAG-UFU 5366); Chapada dos Guimarães (AAG-UFU 2138–2139); Cuiabá (AAG-UFU 2123); Santo Antônio do Leverger (AAG-UFU 1435–1438); *Adenomera* cf. *diptyx* – BRASIL: MARANHÃO: Carolina (AAG-UFU 2787); *Adenomera engelsi* – BRASIL: SANTA CATARINA: Rancho Queimado (MNRJ 72637, 72543–72544); *Adenomera hylaedactyla* – BRASIL: AMAZONAS: Manaus (INPA-H 14857, 22410–22413, 26606–26609); São Gabriel da Cachoeira (AAG-UFU 3859–3866); *Adenomera* cf. *hylaedactyla* – MATO GROSSO: Barra do Garças (AAG-UFU 3480–3486); MINAS GERAIS: Uberlândia (AAG-UFU 1328–1329, 2283, 3540–3542, 3686, 3699, 3733, 3748–3749, 4633); RONDÔNIA: Vilhena (AAG-UFU 5269–5271); *Adenomera* aff. *hylaedactyla* – PARÁ: Belém (AAG-UFU 2799–2801; LHUFCG 0156–0164, 0167, 0217); Peixe-Boi (LHUFCG 0225–0230); RORAIMA: Cantá (AAG-UFU 5540–5543); *Adenomera juikitam* – BRASIL: CEARÁ: Ipú (URCA-H 7019–7024); GOIÁS: Teresina de Goiás (holótipo: AAG-UFU 1406; parátipos: AAG-UFU 0807, 1405); MARANHÃO: Carolina (AAG-UFU 2784–2785); TOCANTINS: Mateiros (AAG-UFU 2401, 2403, 2407, 2430, 2445, 2457, 2462, 2482); Palmas (AAG-UFU 2662–2663, 2666, 2740–2741); *Adenomera lutzi* – GUIANA: Potaro-Siparuni (MZUSP 149404–149410, 150799–150804); *Adenomera marmorata* – BRASIL: RIO DE JANEIRO: Bangu (MNRJ 51091, 53817–53818, 53820, 54081–54082, 55684, 58132–58138, 58140–58142); Saquarema (MNRJ 76775, 76778–76779); *Adenomera* cf. *marmorata* – BRASIL: MINAS GERAIS: Chiador (AAG-UFU 0688); SÃO PAULO: Santo André (AAG-UFU 3031); São Sebastião (AAG-UFU 3007); *Adenomera martinezi* – BRASIL: PARÁ: Novo Progresso, Cachimbo (AAG-UFU 1515–

1525; série tipo: MZUSP 73684, 73695); *Adenomera saci* – BRASIL: GOIÁS: Alto Paraíso de Goiás (holótipo: AAG-UFU 1339; parátipos: AAG-UFU 0108–0109, 0762–0763, ZUEC 3287); *Adenomera thomei* – BRASIL: BAHIA: Itabuna (ZUEC 998); SÃO PAULO: Campos do Jordão (ZUEC 980–981); Itatiba (LHUFCG 0187–0188); Poços de Caldas (ZUEC 8376–8378); *Adenomera* sp. A – BRASIL: RIO DE JANEIRO: Macaé (AAG-UFU 0529; 0756–0757); *Adenomera* sp. O – BRASIL: PARANÁ: Morretes (LHUFCG 0171, 0180; ZUEC 4722); *Adenomera* sp. S – BRASIL: SÃO PAULO: Apiaí (AAG-UFU 5225–5228).

Lithodytes lineatus – BRASIL: AMAZONAS: Itacoatiara (MNRJ 56699); Barcelos (MNRJ 36243); PARÁ: Piçarra (MNRJ 67289–67290);
Leptodactylus albilabris – PORTO RICO (MZUSP 80255, 101832); *Leptodactylus bolivianus* – BRASIL: AMAZONAS: Humaitá (MNRJ 70718–70720); *Leptodactylus bufonius* – ARGENTINA: FORMOSA: Matacos (MNRJ 39965); PARAGUAY: PRESIDENTE HAYES: Pozo Colorado (MNRJ 69308–69311; MZUSP 83353–83354); *Leptodactylus caatingae* – BRASIL: BAHIA: Curaçá (MZUSP 81093–81095); PARAÍBA: São João do Cariri (MNRJ 38307–38308, 40825–40827); RIO GRANDE DO NORTE: Macaíba (AAG-UFU 3575–3577); *Leptodactylus camaquara* – BRASIL: MINAS GERAIS: Jaboticatubas (paratypes: ZUEC 1367–1368, 1438, 1670, 2086, 2528, 2571, 2845, 3361; topotypes: AAG-UFU 0046–0047; ZUEC); Santa Bárbara (MNRJ 72750–72751); Santana do Riacho (MNRJ 38735; ZUEC 2271, 2478, 3954); *Leptodactylus chaquensis* – PARAGUAI: POZO COLORADO (MNRJ 62809–62836); *Leptodactylus cunicularius* – BRASIL: MINAS GERAIS: Jaboticatubas / Santana do Riacho (holótipo: MZUSP 73685 (Ex-WCAB 48000); parátipos: CFBH 6238–6240; MNRJ 60133; MZUSP 74179–74182; topótipos: AAG-UFU 1155–1156, 3165; CFBH 782, 24370; MZUSP 74183–74184, 74273–74274, 86578; UFMG 2913; ZUEC 5891, 8213); Alpinópolis (AAG-UFU 0959–0961); Bom Jardim de Minas (AAG-UFU 3373–3382); Congonhas (UFMG 12516); Lima Duarte (MNRJ 26313–26314, 28870; MZUFV 4092, 4960, 6444); Minduri (UFMG 16433); Ouro Branco (MZUFV 7034, 7097, 7227, 8589–8590); Patos de Minas (AAG-UFU 3929–3930); Perdizes (AAG-UFU 0856–0857, 2577–2578, 2596, 4779, 4988–4989); Poços de Caldas (AAG-UFU 4130, 4816–4818, 4995–4997; MZUSP 134488–134489; ZUEC 4446); Prados (UFMG 2912–2913); Sacramento (AAG-UFU 3397–3398); São Roque de Minas (AAG-UFU 0066–0070, 0576–0582; MZUFV 4292; ZUEC 4439); São Tomé das Letras (ZUEC 11334); *Leptodactylus* aff. *cunicularius* – BRASIL: BAHIA: Jacaraci (AAG-UFU 3933–3934); DISTRITO FEDERAL: Brasília (CHUNB 74478, 74483–74485); GOIÁS: Alto Paraíso de Goiás (AAG-UFU 0769–

0771, 1346–1354); Caldas Novas (AAG-UFU 3162–3166, 4325, 4339–4341, 0005–0007, 0017); MINAS GERAIS: Paracatu (AAG-UFU 1702–1703); Formoso (AAG-UFU 1918–1919); Diamantina (AAG-UFU 5000–5002); Cristália (AAG-UFU 3365–3369; CFBH 10217–10218); *Leptodactylus cupreus* – BRASIL: MINAS GERAIS: Ervália (holótipo: MNRJ 47752; parátipos: MNRJ 47753–47754, 50436–50438); *Leptodactylus didymus* – BRASIL: ACRE: Xapuri (MZUSP 68986–68990); *Leptodactylus diedrus* – BRASIL: AMAZONAS: São Gabriel da Cachoeira: Cucuí (AAG-UFU 3890); *Leptodactylus discodactylus* – EQUADOR (QCAZ 53242, 53244, 53525); *Leptodactylus elenae* – ARGENTINA: CHACO (MNRJ 39961–39963); BRASIL: MATO GROSSO: Cuiabá (AAG-UFU 2119–2121); *Leptodactylus fragilis* – PANAMA (MZUSP 143063–143064); *Leptodactylus furnarius* – BRASIL: DISTRITO FEDERAL: Brasília (AAG-UFU 2668, 3041–3042); MATO GROSSO: Alto Araguaia (AAG-UFU 1725); GOIÁS: Caldas Novas (AAG-UFU 3110, 4333–4336); MINAS GERAIS: Araguari (AAG-UFU 3169); Presidente Olegário (MNRJ 32579); Santana do Riacho (MNRJ 71930); São Roque de Minas (AAG-UFU 0063–0065); Uberlândia (AAG-UFU 0020, 2161, 2167, 2197); SÃO PAULO: Campinas (AAG-UFU 1619); Santo André (holotype: MZUSP 73678; paratypes: MZUSP 74226–74227, 74230–74231, 74297–74300); *Leptodactylus fuscus* – BRASIL: MATO GROSSO: Cuiabá (AAG-UFU 2122); MINAS GERAIS: Perdizes (AAG-UFU 2848–2854); Uberlândia (AAG-UFU 2162–2163, 2168, 2196, 2250–2251, 3077–3089); SÃO PAULO: Guararapes (AAG-UFU 2013–2015); Itatiba (AAG-UFU 2182–2183); *Leptodactylus gracilis* – BRASIL: RIO GRANDE DO SUL: Bagé (MNRJ 82565); SANTA CATARINA: Itapema (AAG-UFU 3129); Florianópolis (holótipo: MZUSP 56589; parátipos: MZUSP 56590–56591); Palhoça (MNRJ 74313–74316); URUGUAY: COLONIA (MZUSP 22926); *Leptodactylus guianensis* – BRASIL: RORAIMA: Vila Surumu (MNRJ 42209–42215); *Leptodactylus jolyi* – BRASIL: SÃO PAULO: Rio Grande da Serra (AAG-UFU 4092–4093, 4146); *Leptodactylus labrosus* – ECUADOR: PICHINCHA (MZUSP 56374–56375); *Leptodactylus latinasus* – BRASIL: RIO GRANDE DE SUL: Bagé (MNRJ 82570–82572); URUGUAY: ARTIGAS (MZUSP 56611–56612); MALDONADO (MZUSP 52760–52763); *Leptodactylus latrans* – BRASIL: RIO DE JANEIRO: Teresópolis: Vale dos Agriões (neótipo: MNRJ 30733); *Leptodactylus leptodactyloides* – EQUADOR (QCAZ 20446, 27911, 43660, 43737, 43776, 43785); *Leptodactylus longirostris* – BRASIL: PARÁ: Porto Trombetas (MNRJ 48137, 48139, 48142); RORAIMA: Cantá (AAG-UFU 5438–5441); *Leptodactylus macrosternum* – BRASIL: BAHIA (holótipo: MZUSP 42); *Leptodactylus*

marambaiae – BRASIL: RIO DE JANEIRO: Restinga de Marambaia (topotypes: AAG-UFU 4193; MNRJ 19950, 20088, 30932, 40745); *Leptodactylus melanonotus* – EQUADOR (QCAZ 10347–10348, 29621–29623); *Leptodactylus mystaceus* – BRASIL: ACRE: Rio Branco (AAG-UFU 4197); AMAZONAS: Itacoatiara (MNRJ 56708–56714; MZUSP 57355, 60129); PARÁ: Altamira (ZUEC 5772, 7194, 7197, 7218, 7228, 7250, 7326, 7399, 14928, 14973, 15012); RONDÔNIA: Cacoal (AAG-UFU 2560); *Leptodactylus mystacinus* – BRASIL: BAHIA: Piatã (AAG-UFU 1686); MINAS GERAIS: Uberlândia (AAG-UFU 3064–3076); RIO GRANDE DO SUL: Santa Maria (MNRJ 18762); *Leptodactylus natalensis* – BRASIL: BAHIA: Ilhéus (AAG-UFU 0234–0236); GOIÁS: Uruaçu (AAG-UFU 1416–1425); MARANHÃO: Carolina (AAG-UFU 2780–2783); MINAS GERAIS: Araguari (AAG-UFU 4658, 4660, 4663–4664, 4666–4668); RIO GRANDE DO NORTE: Macaíba (AAG-UFU 3579–3580, 3850; AAGARDA 2881–2888); *Leptodactylus notoaktites* – BRASIL: SÃO PAULO: Iporanga (holotype: MZUSP 25428); Ribeirão Branco (MNRJ 19347–19355); *Leptodactylus oreomantis* – BRASIL: BAHIA: Ibicoara (paratypes: UFMG 4332, 4361–4363); Mucugê (paratypes: UFMG 4260–4261, 4294, 4355–4356, 7948–7950); Piatã (paratypes: UFMG 7888–7891); Rio de Contas (holótipo: UFMG 3825; paratypes: UFMG, 4443–4445, 4461); *Leptodactylus petersii* – BRASIL: AMAZONAS: São Gabriel da Cachoeira (AAG-UFU 3867–3868; 3891–3895); *Leptodactylus petersii ("L. brevipes")* – BRASIL: MATO GROSSO: Chapada dos Guimarães (UFMT-A 12001–12005, 12010–12015); *Leptodactylus plaumanni* – BRASIL: SANTA CATARINA: Rancho Queimado (MNRJ 72228, 72475–72477); *Leptodactylus podicipinus* – BRASIL: MATO GROSSO DO SUL: Bela Vista (AAG-UFU 0154); MATO GROSSO: Cáceres (AAG-UFU 5365); *Leptodactylus poecilochilus* – COSTA RICA (MZUSP 101585); *Leptodactylus pustulatus* – BRASIL: MATO GROSSO: Barra do Garças (AAG-UFU 1058–1059); TOCANTINS: Brejinho de Nazaré (AAG-UFU 0915); *Leptodactylus sabanensis* – VENEZUELA: GRAN SABANA (ZUEC 9407); *Leptodactylus sertanejo* – BRASIL: GOIÁS: Alto Paraíso de Goiás (AAG-UFU 0764–0765, 1342–1345, 3124); MINAS GERAIS: São Roque de Minas (AAG-UFU 0059, 0067–0075); Uberlândia (paratypes: AAG-UFU 3107–3108; topotypes: AAG-UFU 4654–4657, 4946); *Leptodactylus spixi* – BRASIL: BAHIA: Ilhéus (MNRJ 1724, 9300–9302); MINAS GERAIS: Marliéria (MZUSP 150080–150081); RIO DE JANEIRO: Teresópolis (MZUSP 101297); *Leptodactylus tapiti* – BRASIL: GOIÁS: Alto Paraíso de Goiás (topótipos: AAG-UFU 0868–0871); *Leptodactylus troglodytes* – BRASIL: BAHIA: Jaborandi (MNRJ 62306–62323); *Leptodactylus validus* – BRASIL: AMAZONAS: São

Gabriel da Cachoeira: Cucuí (AAG-UFU 3885–3889); *Leptodactylus ventrimaculatus* – EQUADOR: ZAPALLO (QCAZ 3759–3760); *Leptodactylus wagneri* – EQUADOR: (QCAZ 26219, 26295, 36082, 36084, 38979, 39292).

Hydrolaetare caparu – BRASIL: RONDÔNIA: Porto Velho (INPA-H 15401–15402); *Hydrolaetare dantasi* – BRASIL: AMAZONAS: Careiro (INPA-H 22222, 31964, 31979); *Hyodrolaetare schmidti* – BRASIL: AMAZONAS: PARNA do lago Jari (INPA-H 28813–28814).

APÊNDICE B – MÉDIAS INDIVIDUAIS DE CARACTERES ACÚSTICOS PARA POPULAÇÕES DE *A. COTUBA* E *A. JUIKITAM*, COM IDENTIFICAÇÃO DOS CASOS DE SINTOPIA

Casos de sintopia (assinalados em negrito), isto é, quando os machos de uma das espécies foram gravados em localidade onde há outra espécie também estava em atividade de vocalização no local, sem qualquer evidência de segregação de habitat entre elas.

	Adenomera cotuba					
	DC (s)	**DP (ms)**	**NP**	**PS^{-1}**	**CM^{-1}**	**FF (Hz)**
MIN1	0,112	8,7	12,5	133,4	162,8	1585,5
MIN2	0,099	8,1	12,2	144,0	202,9	1648,0
MIN3	0,113	8,0	13,7	143,7	201,1	1564,2
PAL	**0,092**	**9,8**	**9,2**	**116,7**	**105,5**	**1738,3**
PAR	0,110	6,9	15,8	162,0	139,4	1751,5
SDE	0,101	9,7	10,2	109,7	209,9	1623,4
TGO1	**0,109**	**10,1**	**10,8**	**122,8**	**169,6**	**1740,6**
TGO2	**0,086**	**8,4**	**10,4**	**156,2**	**148,4**	**1779,7**
TGO3	**0,115**	**11,8**	**9,8**	**100,3**	**160,6**	**1750,7**
TGO4	**0,096**	**10,5**	**9,2**	**121,4**	**124,0**	**1715,8**
TGO5	**0,111**	**8,4**	**13,1**	**131,1**	**133,6**	**1767,7**
TGO6	**0,093**	**8,5**	**10,9**	**135,8**	**178,1**	**1809,1**

	Adenomera juikitam					
	DC (s)	**DP (ms)**	**NP**	**PS^{-1}**	**CM^{-1}**	**FF (Hz)**
CAR1	0,163	8,9	16,5	112,1	31,8	2220,2
CAR2	0,167	9,9	17,1	109,5	42,8	2267,2
CAR3	0,183	7,6	21,6	119,2	37,9	2278,4
MAT1	0,189	8,8	20,7	111,1	40,9	2250,1
MAT2	0,197	11,1	17,1	90,8	41,5	2193,4
PAL1	**0,169**	**9,2**	**18,2**	**132,0**	**46,0**	**1848,4**
PAL2	**0,207**	**7,4**	**25,7**	**126,1**	**47,7**	**1799,1**
TGO1	**0,185**	**11,2**	**16,5**	**109,6**	**43,4**	**1880,0**
TGO2	**0,164**	**10,0**	**16,4**	**114,4**	**45,5**	**2014,2**
CE1	0,163	10,9	15,1	103,7	48,3	2188,3
CE2	0,141	8,4	16,4	119,8	52,2	2186,2

Variáveis temporais: DC (duração do canto), DP (duração média do pulso), NP (número de pulsos por canto), PS (taxa de repetição de pulsos; por segundo), CM (taxa de repetição de cantos; por minuto); variáveis espectrais: FF (frequência fundamental média dos pulsos).

Localidades: MIN (Minaçu, GO); PAL (Palmas, TO); SDE (São Desidério, BA); TGO (Teresina de Goiás, GO); CAR (Carolina, MA); MAT (Mateiros, TO); CE (estado do Ceará).

APÊNDICE C – ESCORES DAS ACPs ACÚSTICAS

Três primeiros eixos principais (CPs), temperatura do ar correspondente às gravações, autovalores e porcentagem de variação por eixo.

Abreviações: hylaed (*A. hylaedactyla*); Vilhena (*Adenomera* "Vilhena"); Cerrado (*Adenomera* "Cerrado"); coca (*A. coca*).

Indivíduo	PC1	PC2	PC3	°C	Indivíduo	PC1	PC2	PC3	°C
hylaed1	0,980	1,546	-1,345	26	**Cerrado1**	-0,883	0,182	-0,147	27
hylaed2	0,389	1,226	-2,208	24	**Cerrado2**	0,144	0,114	1,143	27
hylaed3	1,501	1,267	-0,445	22	**Cerrado3**	-1,628	-0,554	-1,027	27
hylaed4	-0,542	0,367	-1,658	22	**Cerrado4**	-1,166	-0,362	-0,739	26
hylaed5	1,346	1,313	-1,029	24	**Cerrado5**	-1,774	0,325	-0,362	25,3
hylaed6	3,687	-0,697	-0,005	30,2	**Cerrado6**	-0,317	1,857	1,489	25,3
hylaed7	3,419	-1,693	1,043	30,2	**Cerrado7**	-2,404	1,628	0,571	26
hylaed8	2,238	-0,434	-0,530	30,1	**Cerrado8**	-3,097	1,705	0,031	24
hylaed9	0,831	-1,910	-3,371	30,1	**Cerrado9**	-0,609	1,449	1,353	24,8
hylaed10	4,929	0,230	1,520	27	**Cerrado10**	-2,032	0,939	0,032	21
hylaed11	1,267	-0,450	0,069	27	**Cerrado11**	-1,679	2,126	1,020	21
hylaed12	0,443	-0,783	-0,906	27	**Cerrado12**	-0,602	-0,995	2,109	23
hylaed13	2,065	-1,099	-1,473	27	**Cerrado13**	-1,847	0,048	-0,157	26,1
hylaed14	1,064	0,206	-1,609	27	**Cerrado14**	3,101	2,531	3,333	21
hylaed15	2,834	-1,000	0,657	27	**Cerrado15**	-0,169	3,048	0,369	25,6
hylaed16	0,910	0,074	-0,831	27	**Cerrado16**	-1,764	-0,718	-0,341	25,6
hylaed17	2,228	-2,022	-0,682	25	**Cerrado17**	-3,372	1,823	-0,617	18
Vilhena1	-2,031	-3,585	1,854	25	**coca1**	-1,161	4,463	0,345	21,1
Vilhena2	-2,052	-4,449	1,148	25	-------	-------	-------	-------	---
Vilhena3	-1,576	-4,290	1,019	25	-------	-------	-------	-------	---
Vilhena4	-2,672	-3,424	0,377	25	-------	-------	-------	-------	---
Autovalores	2,024	1,909	1,278	---	**Autovalores**	2,024	1,909	1,278	---
% variação	31,5	28,0	12,6	---	**% variação**	31,5	28,0	12,6	---

Três primeiros eixos principais (CPs), autovalores e porcentagem de variação por eixo. Abreviações: diptyx (*A. diptyx*); cfdiptyx (*A.* cf. *diptyx*); hylaed (*A. hylaedactyla*); Vilhena (*Adenomera* "Vilhena"); Cerrado (*Adenomera* "Cerrado"); coca (*A. coca*).

Indivíduo	**PC1**	**PC2**	**PC3**	**Indivíduo**	**PC1**	**PC2**	**PC3**	**Indivíduo**	**PC1**	**PC2**	**PC3**
diptyx1	2,081	1,269	1,426	**hylaed5**	-2,221	0,969	0,511	**Cerrado5**	-1,251	-1,777	0,262
diptyx2	1,939	1,219	0,511	**hylaed6**	-1,533	2,224	-1,937	**Cerrado6**	-2,182	-0,102	0,231
diptyx3	3,002	1,342	1,236	**hylaed7**	-1,017	1,510	-3,212	**Cerrado7**	-1,998	-2,212	0,835
diptyx4	1,040	-0,150	-1,318	**hylaed8**	-1,357	1,285	-1,223	**Cerrado8**	-1,892	-2,661	1,417
diptyx5	3,054	2,768	1,264	**hylaed9**	0,338	1,738	0,586	**Cerrado9**	-2,171	-0,928	-0,063
diptyx6	2,229	-1,319	0,006	**hylaed10**	-1,534	4,658	-1,663	**Cerrado10**	-1,432	-1,659	0,876
diptyx7	1,595	-0,674	-0,275	**hylaed11**	-1,088	0,710	-1,237	**Cerrado11**	-2,306	-1,313	0,914
diptyx8	3,975	0,841	2,461	**hylaed12**	-0,912	-0,544	-0,770	**Cerrado12**	-0,473	-0,730	-1,311
diptyx9	3,139	1,314	-0,225	**hylaed13**	-0,758	0,963	-0,957	**Cerrado13**	-0,631	-1,254	1,029
diptyx10	3,238	-0,581	-0,879	**hylaed14**	-1,117	0,248	0,282	**Cerrado14**	-3,047	3,121	-1,295
diptyx11	3,176	-0,630	0,613	**hylaed15**	-0,727	2,011	-1,605	**Cerrado15**	-3,273	-0,181	1,001
diptyx12	3,153	-0,529	0,419	**hylaed16**	-0,910	0,656	0,247	**Cerrado16**	-0,003	-1,264	0,830
diptyx13	3,734	-1,563	-1,998	**hylaed17**	0,398	1,204	-1,208	**Cerrado17**	-1,966	-2,635	1,551
diptyx14	2,388	2,517	2,526	**Vilhena1**	1,806	-2,461	-1,549	**coca1**	-4,189	-0,642	1,632
diptyx15	2,585	-1,290	0,506	**Vilhena2**	2,085	-2,215	-2,074	-------	-------	-------	-------
cfdiptyx1	1,574	0,276	-0,834	**Vilhena3**	1,861	-2,022	-2,065	-------	-------	-------	-------
cfdiptyx2	1,563	2,850	2,691	**Vilhena4**	1,669	-2,486	-0,857	-------	-------	-------	-------
hylaed1	-2,503	0,498	0,259	**Cerrado1**	-1,293	-1,112	0,009	-------	-------	-------	-------
hylaed2	-1,565	1,021	1,855	**Cerrado2**	-1,296	-0,126	-0,742	-------	-------	-------	-------
hylaed3	-2,189	1,134	0,285	**Cerrado3**	-0,624	-1,604	0,325	-------	-------	-------	-------
hylaed4	-1,360	-0,418	0,705	**Cerrado4**	-0,807	-1,263	-0,005	-------	-------	-------	-------
Autovalores	2,079	1,636	1,278	**Autovalores**	2,079	1,636	1,278	**Autovalores**	2,079	1,636	1,278
% variação	33,2	20,6	12,6	**% variação**	33,2	20,6	12,6	**% variação**	33,2	20,6	12,6

Três primeiros eixos principais (CPs), autovalores e porcentagem de variação por eixo. Abreviações: marm (*A. marmorata*); spJ (*Adenomera* sp. J); spK (*Adenomera* sp. K).

Indivíduo	**PC1**	**PC2**	**PC3**	**Indivíduo**	**PC1**	**PC2**	**PC3**
marm1	-0,284	1,001	0,401	**spJ8**	-0,071	-0,437	-0,923
marm2	0,277	2,862	-0,707	**spJ9**	1,306	-0,658	0,672
marm3	0,066	1,527	-0,985	**spJ10**	0,426	-1,147	-1,653
marm4	0,168	1,006	1,483	**spJ11**	0,598	-0,736	-0,584
marm5	-0,107	1,033	0,034	**spJ12**	1,011	-0,715	1,133
marm6	-0,392	-0,819	-0,506	**spJ13**	1,472	-0,821	0,228
spJ1	0,935	-0,404	-0,123	**spK1**	-1,086	-0,247	-0,208
spJ2	0,266	-0,124	-1,003	**spK2**	-1,662	-0,550	-1,082
spJ3	-0,072	0,152	-0,770	**spK3**	-1,243	-0,156	1,988
spJ4	1,035	-0,221	0,253	**spK4**	-1,320	-0,614	1,406
spJ5	1,022	0,408	0,764	**spK5**	-1,454	-0,460	0,243
spJ6	-0,024	0,448	0,371	**spK6**	-1,147	-0,128	-0,443
spJ7	0,280	-0,202	0,012	------	------	------	------
Autovalores	5,570	4,000	2,350	**Autovalores**	5,570	4,000	2,350
% variação	34,81	25,00	14,69	**% variação**	34,81	25,00	14,69

Três primeiros eixos principais (CPs), autovalores e porcentagem de variação por eixo. Abreviações: bok (*A. bokermanni*); engelsi (*A. engelsi*); nana (*A. nana*); spO (*Adenomera* sp. O); spN (*Adenomera* sp. N).

Indivíduo	**PC1**	**PC2**	**PC3**	**Indivíduo**	**PC1**	**PC2**	**PC3**
bok1	-0,154	0,955	0,874	**engelsi6**	-0,656	-0,308	0,417
bok2	-0,012	1,019	0,098	**engelsi7**	-1,780	-0,881	-0,958
bok3	-0,143	0,942	0,787	**nana1**	0,368	-0,627	0,267
bok4	0,168	1,028	0,023	**nana2**	0,569	-0,569	0,149
bok5	0,054	1,082	0,190	**nana3**	0,659	-0,393	0,072
bok6	-0,990	0,707	0,460	**nana4**	0,401	-0,654	0,154
bok7	-1,009	0,802	1,073	**nana5**	0,751	-0,456	0,390
bok8	0,811	2,052	-3,324	**nana6**	1,054	-0,468	-1,473
spO1	-0,040	1,449	0,860	**nana7**	0,483	-1,136	0,319
spO2	-0,045	1,278	1,136	**nana8**	0,542	-0,496	0,447
spN1	-2,149	-0,312	-0,642	**nana9**	0,681	-0,508	0,283
engelsi1	0,733	0,089	0,189	**nana10**	0,425	-0,847	0,530
engelsi2	-0,210	-0,363	-0,166	**nana11**	1,137	-0,369	-0,241
engelsi3	0,100	-0,007	-0,559	**nana12**	0,508	-0,760	-0,132
engelsi4	-1,261	-0,652	-0,735	**nana13**	0,693	-0,769	0,154
engelsi5	-1,686	-0,826	-0,643	------	------	------	------
Autovalores	5,607	4,527	2,426	**Autovalores**	5,607	4,527	2,426
% variação	35,0	28,3	15,2	**% variação**	35,0	28,3	15,2

APÊNDICE D – CARREGAMENTOS DAS VARIÁVEIS ACÚSTICAS NAS ACPs

Carregamentos das variáveis references à primeira ACP do Apêndice C.

Variáveis	CP1	CP2	CP3
CM	0,341	-0,231	-0,276
CD	-0,17	0,441	0,261
PS	0,338	-0,252	-0,235
PA	-0,211	-0,204	0,061
PD	-0,227	-0,092	-0,289
FPA	0,3	-0,184	0,406
FPQ	0,382	-0,162	0,228
FC	0,422	-0,001	0,225
MLF	-0,227	-0,315	0,238
FF	-0,215	-0,362	0,354
FD	-0,22	-0,374	0,32
NP	0,033	0,427	0,362

Carregamentos das variáveis references à segunda ACP do Apêndice C.

Variáveis	CP1	CP2	CP3
CM	0,342	0,235	-0,074
CD	-0,424	-0,156	0,11
PS	-0,085	0,14	-0,44
PA	0,024	-0,379	-0,354
PD	0,325	0,115	0,41
FPA	-0,074	0,082	-0,577
FPQ	0,06	0,46	-0,186
FC	0,094	0,514	-0,061
MLF	0,263	-0,261	-0,135
FF	0,377	-0,204	-0,198
FD	0,381	-0,222	-0,186
NP	-0,447	-0,08	-0,105

APÊNDICE D – CARREGAMENTOS DAS VARIÁVEIS ACÚSTICAS NAS ACPs (CONTINUAÇÃO)

Carregamentos das variáveis references à penúltima ACP do Apêndice C.

Variáveis	CP1	CP2	CP3
CM	0.345	-0.824	-0.289
CD	-0.929	-0.153	0.226
PA	0.249	0.936	-0.315
DA	0.042	0.941	-0.272
DQ	-0.593	-0.812	0.245
DP	0.881	0.066	-0.036
FPA	0.508	0.500	-0.143
FPQ	-0.309	-0.354	-0.919
FC	-0.215	-0.517	-0.902
H1/H2	-0.280	-0.320	0.553
MLF	0.027	0.702	0.405
LB	0.359	0.241	-0.532
DF	1.010	-0.329	0.103
FF	1.010	-0.362	0.088
FCA	0.984	-0.443	0.094
FCQ	1.017	-0.202	0.219

Carregamentos das variáveis references à última ACP do Apêndice C.

Variáveis	CP1	CP2	CP3
CM	0,002	1,032	0,098
CD	-0,810	-0,507	-0,188
PA	-0,987	-0,418	-0,355
DA	-0,925	-0,462	-0,393
DQ	1,062	0,314	0,201
DP	-0,873	-0,016	0,115
FPA	0,836	0,179	0,393
FPQ	0,236	0,264	-1,015
FC	0,551	0,417	-0,899
H1/H2	0,217	-0,062	-0,287
MLF	-0,551	-0,620	-0,038
LB	0,364	0,367	-0,919
DF	0,663	-0,947	-0,082
FF	0,663	-0,946	-0,084
FCA	0,709	-0,913	-0,063
FCQ	0,615	-0,981	-0,067

APÊNDICE E – ESCORES DAS ACPs MORFOMÉTRICAS

Três primeiros eixos principais (CPs), autovalores e porcentagem de variação por eixo. Abreviações: hylaed (*A. hylaedactyla*); Vilhena (*Adenomera* "Vilhena"); Cerrado (*Adenomera* "Cerrado"); spnov (*A.* aff. *hylaedactyla*).

Indivíduo	PC1	PC2	PC3	Indivíduo	PC1	PC2	PC3	Indivíduo	PC1	PC2	PC3
hylaed1	-3,966	0,811	-0,733	**spnov3**	2,620	1,449	1,202	**Cerrado5**	-0,547	-0,681	-0,019
hylaed2	-0,881	1,685	-0,851	**spnov4**	3,138	-0,512	0,902	**Cerrado6**	0,830	-0,044	0,108
hylaed3	-3,152	0,315	-0,723	**spnov5**	2,562	1,632	0,494	**Cerrado7**	-0,578	-0,710	-0,626
hylaed4	-2,359	2,669	-0,848	**spnov6**	3,263	-1,231	0,143	**Cerrado8**	-0,837	-0,527	-0,099
hylaed5	-2,561	-1,030	0,041	**spnov7**	2,060	-1,196	0,717	**Cerrado9**	-0,669	1,658	-0,529
hylaed6	-1,153	0,918	-0,384	**spnov8**	1,878	-1,485	-0,138	**Cerrado10**	3,160	-0,712	-1,179
hylaed7	-3,032	-0,321	-1,305	**spnov9**	1,150	-0,987	0,673	**Cerrado11**	-0,487	-0,546	-2,211
hylaed8	-1,114	-0,016	-0,847	**spnov10**	1,385	-1,709	0,092	**Cerrado12**	-0,870	-1,099	-0,916
hylaed9	-4,832	-0,144	1,050	**spnov11**	1,651	1,276	-0,503	**Cerrado13**	0,897	-1,850	-0,210
hylaed10	-4,588	0,254	-0,273	**spnov12**	0,867	-0,036	2,773	**Cerrado14**	-0,724	1,095	-0,701
hylaed11	-6,676	0,692	1,350	**spnov13**	4,703	0,344	1,179	**Cerrado15**	0,458	0,076	-0,482
hylaed12	-5,808	-1,337	0,369	**spnov14**	4,738	1,572	-0,058	**Cerrado16**	-0,462	0,117	0,534
hylaed13	-4,860	-0,441	0,175	**spnov15**	2,679	0,366	-1,486	**Cerrado17**	2,037	1,816	0,456
hylaed14	-5,730	-0,363	0,097	**spnov16**	2,416	0,064	1,568	**Cerrado18**	-0,820	0,769	0,755
hylaed15	-5,685	1,361	1,483	**spnov17**	3,752	-0,451	1,060	**Cerrado19**	0,494	0,497	1,389
hylaed16	-5,796	-0,415	0,645	**spnov18**	1,309	0,251	0,742	**Cerrado20**	1,979	0,531	-0,284
hylaed17	1,303	0,331	-1,411	**spnov19**	5,357	-1,161	0,617	**Cerrado21**	3,180	-1,172	-0,185
hylaed18	0,156	-0,359	-2,146	**Vilhena1**	4,428	0,872	0,969	**Cerrado22**	3,119	1,594	-0,912
hylaed19	0,280	0,318	-1,412	**Cerrado1**	0,011	-0,415	0,432	**Cerrado23**	-4,093	0,029	0,338
hylaed20	-0,080	-1,219	-0,803	**Cerrado2**	0,379	-1,200	-0,157	**Cerrado24**	-0,735	-0,780	0,156
spnov1	4,671	-1,038	-0,950	**Cerrado3**	-1,100	-0,974	0,415	**Cerrado25**	-2,272	-0,988	0,129
spnov2	2,446	1,874	-0,499	**Cerrado4**	1,114	-0,085	0,827	**-------**	**-------**	**-------**	**-------**
Autovalores	2,946	1,021	0,924	**Autovalores**	2,946	1,021	0,924	**Autovalores**	2,946	1,021	0,924
% variação	66,77	8,02	6,57	**% variação**	66,77	8,02	6,57	**% variação**	66,77	8,02	6,57

Três primeiros eixos principais (CPs), autovalores e porcentagem de variação por eixo. Abreviações: diptyx (*A. diptyx*); cfdiptyx (*A.* cf. *diptyx*); hylaed (*A. hylaedactyla*); Vilhena (*Adenomera* "Vilhena"); hylaedCerrado (*Adenomera* "Cerrado"); spnov (*A.* aff. *hylaedactyla*).

Indivíduo	**PC1**	**PC2**	**PC3**	**Indivíduo**	**PC1**	**PC2**	**PC3**
diptyx1	0,038	0,609	0,281	**spnov10**	0,941	1,759	0,236
diptyx2	4,423	0,525	0,081	**spnov11**	1,247	-1,250	-0,616
diptyx3	3,497	-0,227	0,187	**spnov12**	0,481	-0,221	2,697
diptyx4	3,518	0,998	-2,034	**spnov13**	4,236	-0,386	1,474
diptyx5	4,427	-0,088	-0,855	**spnov14**	4,282	-1,585	-0,069
diptyx6	4,050	-1,106	0,243	**spnov15**	2,239	-0,252	-1,356
diptyx7	-1,218	0,409	0,080	**spnov1**	2,239	-0,252	-1,356
cfdiptyx1	3,596	-0,948	-0,948	**spnov2**	2,008	-0,195	1,597
diptyx8	2,241	0,612	-0,100	**spnov3**	3,301	0,352	1,199
hylaed1	-4,266	-0,767	-0,789	**spnov4**	0,906	-0,244	0,650
hylaed2	-1,237	-1,647	-0,964	**spnov5**	4,875	1,109	0,918
hylaed3	-3,484	-0,363	-0,743	**Vilhena1**	3,946	-0,932	1,047
hylaed4	-2,655	-2,645	-1,074	**hylaedCerrado1**	-0,376	0,310	0,541
hylaed5	-2,910	0,991	0,132	**hylaedCerrado2**	-0,013	1,198	-0,036
hylaed6	-1,506	-0,988	-0,404	**hylaedCerrado3**	-1,471	0,931	0,514
hylaed7	-3,385	0,392	-1,303	**hylaedCerrado4**	0,691	-0,013	0,975
hylaed8	-1,495	-0,057	-0,873	**hylaedCerrado5**	-0,898	0,689	-0,054
hylaed9	-5,087	0,082	1,075	**hylaedCerrado6**	0,427	0,033	0,218
hylaed10	-4,879	-0,189	-0,241	**hylaedCerrado7**	-0,964	0,815	-0,515
hylaed11	-6,885	-0,802	1,107	**hylaedCerrado8**	-1,191	0,527	0,027
hylaed12	-6,067	1,242	0,393	**hylaedCerrado9**	-1,040	-1,618	-0,626
hylaed13	-5,160	0,318	0,152	**hylaedCerrado10**	2,678	0,853	-1,115
hylaed14	-5,987	0,361	0,058	**hylaedCerrado11**	-0,888	0,644	-2,276
hylaed15	-5,915	-1,506	1,271	**hylaedCerrado12**	-1,242	1,152	-0,791
hylaed16	-6,061	0,281	0,490	**hylaedCerrado13**	0,476	1,765	-0,054
hylaed17	0,914	-0,165	-1,220	**hylaedCerrado14**	-1,076	-1,116	-0,780
hylaed18	-0,263	0,438	-2,087	**hylaedCerrado15**	0,092	-0,058	-0,353
hylaed19	-0,093	-0,185	-1,242	**hylaedCerrado16**	-0,815	-0,136	0,587
hylaed20	-0,487	1,216	-0,597	**hylaedCerrado17**	1,647	-1,852	0,261
spnov1	4,178	1,085	-0,752	**hylaedCerrado18**	-1,165	-0,885	0,779
spnov2	2,053	-1,862	-0,537	**hylaedCerrado19**	0,095	-0,591	1,374
spnov3	2,220	-1,564	1,216	**hylaedCerrado20**	1,553	-0,486	-0,182
spnov4	2,721	0,458	1,023	**hylaedCerrado21**	2,718	1,182	0,074
spnov5	2,167	-1,610	0,574	**hylaedCerrado22**	2,686	-1,435	-0,804
spnov6	2,828	1,238	0,337	**hylaedCerrado23**	-4,362	-0,053	0,232
spnov7	1,617	1,130	0,966	**hylaedCerrado24**	-1,072	0,807	0,234
spnov8	1,437	1,516	0,095	**hylaedCerrado25**	-2,592	1,030	0,166
spnov9	0,752	0,968	0,824	**-------**	**-------**	**-------**	**-------**
Autovalores	2,946	1,021	0,924	**Autovalores**	2,946	1,021	0,924
% variação	66,77	8,02	6,57	**% variação**	66,77	8,02	6,57

APÊNDICE F – CARREGAMENTOS DAS VARIÁVEIS MORFOMÉTRICAS NAS ACPs

Carregamentos das variáveis references à primeira ACP do apêncie Apêndice E.

Variáveis	CP1	CP2	CP3
SVL	-0,318	-0,034	-0,089
TL	-0,305	0,070	0,120
SL	-0,318	0,055	0,121
TSL	-0,267	0,083	0,292
FL	-0,307	0,016	0,041
FRL	-0,281	-0,041	0,412
HAL	-0,295	0,006	-0,290
HL	-0,317	0,083	-0,119
HW	-0,314	-0,068	-0,179
ED	-0,167	-0,754	0,198
TD	-0,219	-0,036	-0,709
END	-0,219	0,598	0,178
IND	-0,225	-0,208	0,045

Carregamentos das variáveis references à primeira ACP do apêncie Apêndice E.

Variáveis	CP1	CP2	CP3
SVL	-0,317	0,008	-0,066
TL	-0,308	-0,066	0,113
SL	-0,318	-0,055	0,119
TSL	-0,275	-0,097	0,262
FL	-0,307	-0,024	0,057
FRL	-0,283	0,042	0,38
HAL	-0,288	-0,002	-0,338
HL	-0,308	-0,089	-0,126
HW	-0,314	0,076	-0,159
ED	-0,173	0,737	0,292
TD	-0,219	0,12	-0,694
END	-0,214	-0,617	0,174
IND	-0,231	0,17	0,007