

Juliana Fernandes Primon

Efeitos da invasão acústica de rã-touro
(*Lithobates catesbeianus*) em comunidades
nativas de anuros

Effects of American bullfrogs (*Lithobates
catesbeianus*) acoustic invasions in native anuran
communities

São Paulo

2022

Juliana Fernandes Primon

Efeitos da invasão acústica de rã-touro
(*Lithobates catesbeianus*) em comunidades
nativas de anuros

Effects of American bullfrogs (*Lithobates
catesbeianus*) acoustic invasions in native anuran
communities

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade de São
Paulo, para a obtenção de Título de
Mestre em Ciências Biológicas, na
Área de Zoologia.

Orientador(a): Taran Grant

São Paulo

2022

FICHA CATALOGRÁFICA

Primon, Juliana Fernandes

Efeitos da invasão acústica de rã-touro (*Lithobates catesbeianus*) em comunidades nativas de anuros

X, 114 páginas

Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Zoologia.

1. Invasão acústica; 2. Rã-touro; 3. Bioacústica; 4. Simulação

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof. Dr. Taran Grant – Orientador

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, que sempre fizeram de
tudo para me ver feliz e me apoiaram
em todas as minhas decisões.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, por todo suporte emocional e financeiro ao longo da minha vida. Por nunca medirem esforços por mim e por me apoiarem sempre.

Agradeço ao Prof. Taran, por ser um orientador extremamente compreensível e humano, pelas conversas, por todo aprendizado e por confiar no meu potencial.

Agradeço à Ro, Dani, C3 e Canadá, pela amizade incondicional, por serem minhas certezas da vida e por tornarem a minha trajetória mais prazerosa.

Agradeço ao Renan, por todo apoio, parceria, compreensão e por sempre me lembrar que sou capaz.

Agradeço à Dani Pocoyo, pela amizade que surgiu de repente e veio para ficar, por sempre me apoiar e estar perto.

Agradeço à C3 e João, por me acompanharem inúmeras vezes ao campo, por me ajudarem a carregar tijolos, casinhas de madeiras, por me consolarem quando tudo dava errado, pelas sugestões e pela amizade.

Agradeço ao Paulo, Rafa, Basil, Julia e Adri, pela convivência no laboratório, ajudas acadêmicas, conversas e desabafos.

Agradeço ao Thithi, por toda ajuda na parte computacional e de programação e pela amizade e carinho.

Agradeço à Prof. Camila Both, pela ajuda no início do trabalho e dicas para realização do experimento.

Agradeço ao Prof. Roberto Zilles e toda equipe do Laboratório de Sistemas Fotovoltaicos do IEE-USP, pela ajuda e fornecimento de material para construção das estações de energia solar utilizadas durante o experimento.

Agradeço ao Marcão, da Estação Ecológica de Santa Bárbara, por sempre me receber e me ajudar durante os experimentos.

Agradeço ao Prof. André Muniz e Gary Nafis, pelo fornecimento de áudios de vocalizações de rã-touro.

Agradeço à Lúcia, por sempre estar disponível para responder minhas dúvidas e por me auxiliar no processo de depósito.

Agradeço à FAPESP (2018/26368-8 e 2012/10000-5), ao CNPq e à Capes pelo financiamento, e ao Instituto de Biociências da USP pelo apoio e infraestrutura.

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE 1. Código em linguagem *Python* utilizado na *Raspberry Pi 3* para reprodução automática dos *playbacks*.

APÊNDICE 2. Modelos estatísticos gerados para análises de riqueza.

APÊNDICE 3. Modelos estatísticos gerados para análise do parâmetro acústico “cantos por minuto”.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Distribuição de *Litobathes catesbeianus* no Brasil.

Figura 2 Fitofisionomias da Estação Ecológica de Santa Bárbara.

Figura 3 Pontos utilizados no experimento localizados nos campos úmidos da EEcSB.

Figura 4 Experimento realizado em campo.

Figura 5 Oscilogramas e espectrogramas das vocalizações de rã touro utilizadas como playback.

Figura 6 Curvas de acumulação de espécies.

Figura 7 Exemplo de validação manual (presente ou ausente) dos ROIs no ARBIMON.

Figura 8 Exemplo de anotação manual das espécies presentes na gravação para acessar a riqueza de anuros.

Figura 9 Espectrograma evidenciando as espécies utilizadas para análise dos parâmetros acústicos.

Figura 10 Comparação de riqueza de espécies entre os tratamentos.

Figura 11 Comparação das frequências dominantes entre os tratamentos.

Figura 12 Comparação da duração do canto 90% entre os tratamentos.

Figura 13 Comparação da quantidade de cantos por minutos entre os tratamentos.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Lista de espécies de anuros da Estação Ecológica de Santa Bárbara.

Tabela 2 Quantidade total de arquivos de gravação de 1min obtidos, filtrados e amostrados, separadas por ponto, período e tratamento.

Tabela 3 Quantidade média de notas por canto e de cantos por minuto de duas populações de *Lithobates catesbeianus*.

Tabela 4 Parâmetros acústicos áudios originais utilizados para construção dos *playbacks*.

Tabela 5 Espécies analisadas no ARBIMON para acessar a riqueza local e *templates* utilizados.

Tabela 6 Parâmetros espectrais das vocalizações das espécies com e sem sobreposição espectral com *Lithobates catesbeianus*.

Tabela 7 Estatística descritiva da riqueza de espécies.

Tabela 8 Composição de espécies nas gravações analisadas.

Tabela 9 Valores dos parâmetros acústicos obtidos para *Dendropsophus jimi*, *Leptodactylus labyrinthicus/luctator*, *Physaleamus cuvieri* e *Scinax fuscomarginatus* em cada tratamento do P2.

SUMÁRIO

RESUMO	1
ABSTRACT	3
INTRODUÇÃO	4
MATERIAIS E MÉTODOS	10
RESULTADOS	38
DISCUSSÃO	52
CONCLUSÃO	62
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	63
APÊNDICES	79

RESUMO

Invasões biológicas por espécies exóticas contribuem para a perda da biodiversidade, alteração de sua dinâmica, prejuízos aos serviços ecossistêmicos, entre outros impactos. A rã-touro-americana (*Lithobates catesbeianus*) é nativa do leste da América do Norte e foi introduzida para consumo humano em mais de 40 países, incluindo o Brasil. É considerada uma das 100 piores espécies invasoras do mundo, está difundida na Mata Atlântica e apresenta contínuo aumento da distribuição no Brasil. Estudos apontam que essa espécie está relacionada ao declínio das populações de anfíbios nativos, uma vez que compete pelos recursos, induzindo a alteração no uso de micro-habitat, é vetor do fungo *Batrachochytrium dendrobatidis* e gera alterações acústicas, principalmente devido a ampla faixa de frequência ocupada pelo seu canto de anúncio. Até o momento, os experimentos realizados para analisar os efeitos da vocalização da rã-touro nas espécies nativas foram focados na resposta imediata de indivíduos de espécies específicas. Aqui, testamos os efeitos da simulação da invasão acústica de rã-touro através de experimentos automatizados com a reprodução de *playbacks* em comunidades naturais para analisar a resposta acústica de médio prazo em comunidades nativas de anuros. Utilizamos dois tratamentos simultâneos com riqueza e composição equivalentes para testar a influência da rã-touro na riqueza e composição de espécies nativas e em parâmetros acústicos de espécies particulares. Nossos resultados mostraram que o experimento de simulação da invasão da rã-touro não alterou a riqueza e nem a composição geral das comunidades, mas causou a diminuição da presença de quatro espécies (*Chiasmocleis albopunctata*, *Elachistocleis cesarii*, *Leptodactylus mystacinus* e *Physalaemus cuvieri*) e a alteração de parâmetros acústicos em mais duas espécies (o aumento da frequência dominante em *Dendropsophus jimi* e *Leptodactylus labyrinthicus/luctator* e diminuindo a duração do canto e o número de cantos por minuto em *L. labyrinthicus/luctator*). Uma possível invasão real de rã-touro nos pontos estudados tem potencial para alterar a composição das

comunidades nativas e parâmetros acústicos, afetando diretamente algumas espécies de anuros.

Palavras-chave: invasão biológica; rã-touro; bioacústica; simulação.

ABSTRACT

Biological invasions by non-native species contribute to the loss of biodiversity, changes in its dynamics, and damage to ecosystem services, among others. The American bullfrog (*Lithobates catesbeianus*) is native to eastern North America and has been introduced in over 40 countries, including Brazil, for human consumption. It is one of the 100 worst invasive species in the world. It is widespread in the Atlantic Forest, and its distribution continues to increase in Brazil. Studies suggest *L. catesbeianus* is related to the decline of native amphibian populations because it competes for resource use, inducing changes in microhabitat uses; is a vector of the *Batrachochytrium dendrobatidis* fungus; and induces changes in acoustic communication, mainly because of the wide frequency range of advertisement call. To date, experiments analyzing the effects of bullfrog vocalizations on native species have focused on the immediate response of individuals of particular species. Here, we tested the effects of a simulated bullfrog acoustic invasion through automated experiments playing playbacks in natural communities to analyze the medium-term acoustics response in native anuran communities. We used two simultaneous treatments with equivalent richness and composition to test the bullfrog influence on the richness and composition of native species and on acoustic parameters of specific species. Our results showed that the bullfrog invasion simulation experiment did not change species richness or community composition, but it caused a decrease in the presence of four species (*Chiasmocleis albopunctata*, *Elachistocleis cesarii*, *Leptodactylus mystacinus*, and *Physalaemus cuvieri*) and altered the acoustic parameters of two more species (increased dominant frequency in *Dendropsophus jimi* and *Leptodactylus labyrinthicus/luctator* and decreased call duration and number of calls per minute in *L. labyrinthicus/luctator*). An actual invasion of bullfrogs in the studied localities has the potential to change the composition of native communities and acoustic parameters, directly impacting some anuran species.

Keywords: biological invasion; bullfrog; bioacoustics; simulation.

INTRODUÇÃO

Sob a perspectiva da conservação, espécies invasoras são organismos introduzidos, acidentalmente ou não, pela ação humana em regiões diferentes de sua área de distribuição natural, que colonizam, persistem e se dispersam, frequentemente atingindo grandes tamanhos populacionais e gerando impactos negativos no ecossistema e nas espécies nativas (Shigesada & Kawasaki 1997, IUCN 2011; Heger et al., 2013). O processo de invasão pode ser dividido em quatro etapas: transporte, introdução, estabelecimento e propagação, resultando no crescimento e naturalização da espécie no novo local (Vermeij, 1996; Crooks 2002c; Blackburn *et al.*, 2011). Como consequência, o estabelecimento da invasora pode causar diversos danos ambientais e alteração nas interações de espécies nativas, contribuindo com a perda de biodiversidade, degradação do ecossistema e gerando prejuízos nos serviços ecossistêmicos (Pyšek & Richardson, 2010). Além disso, o impacto na riqueza e diversidade de espécies por meio de diversos processos (*e.g.*, competição, predação, hibridização e alteração na dinâmica da comunidade nativa) pode gerar uma homogeneização biótica que reduz a distinção entre comunidades biológicas (Mack *et al.*, 2000; Sax *et al.*, 2007; Pyšek & Richardson, 2010).

O processo de invasão biológica é uma das cinco principais causas do declínio da biodiversidade, estando associada com 50% das extinções contemporâneas de espécies animais (Millennium Assessment, 2005; Clavero & García-Berthou, 2005). Estudos apontam que os casos de invasões tendem a aumentar devido a alterações do uso do habitat e eventos de mudanças climáticas (Didham *et al.*, 2007; Hellmann *et al.*, 2008). Além do prejuízo ecológico associado, há um impacto econômico significativo quando projetos de manejo são implementados, com gastos que chegam a bilhões de dólares (Pimentel *et al.*, 2000).

Dentre as 100 piores espécies invasoras do mundo, podemos citar *Lithobates catesbeianus*, conhecida popularmente como rã-touro americana (Lowe

et al., 2000). Esse animal é nativo do leste da América do Norte e foi introduzido em mais de 40 países (África, Américas, Europa, Ásia, ilhas do sul do Pacífico, Mediterrâneo e Caribe) para consumo humano (Kraus, 2008). A alta capacidade de invasão pode ser atribuída ao grande porte, voracidade e capacidade competitiva, dieta generalista, alta capacidade reprodutiva, estação reprodutiva prolongada (três a seis meses) e distribuição nativa com grande amplitude latitudinal (Raney & Igram, 1941; Korschgen & Moyle, 1955; Durham & Bennett, 1963; Bury & Whelan, 1984).

No Brasil, os primeiros registros de ranários para criação de rã-touro datam 1935, no estado do Rio de Janeiro através de incentivo do governo. Nos anos 1980, houve um considerável aumento dessas fazendas pelo surgimento de novas técnicas em aquicultura. Porém, a atividade não estava sendo mais rentável e muitos dos estabelecimentos foram fechados, com o abandono dos indivíduos, que se disseminaram pela natureza (Vizotto, 1984; Lima e Agostinho, 1988; Agostinho, 2003; Jorgewich-Cohen *et al.*, 2022). *Lithobates catesbeianus* tem ampla distribuição na Mata Atlântica (Figura 1), com potencial alarmante de expansão e, como consequência, afetar comunidades nativas de anuros (Both *et al.*, 2011).

Estudos a respeito do impacto da presença da rã-touro em comunidades nativas mostram que essa espécie contribui com o declínio de populações de anfíbios e diminui a riqueza de espécies devido seu alto potencial de competição por recursos alimentares, pois apresenta dieta generalista e de predação (Kraus, 2009; Li *et al.*, 2011). Ainda, é reconhecida por ser um vetor de parasitas e fungos que podem causar doenças letais a outros anfíbios, por induzir uma alteração no uso do habitat, tornando espécies nativas mais suscetíveis a predadores (Kats & Ferrer 2003; Daszak *et al.*, 2004; Schloegel *et al.*, 2010). A vocalização da rã-touro também pode ocasionar interferência acústica com espécies nativas (Both & Grant 2012). Apesar dos impactos já conhecidos, há evidências que indicam que a presença da rã-touro não afeta a composição de espécies de anuros, provavelmente devido à divergência com as espécies nativas, que podem evitar a competição (Both e Melo, 2015).

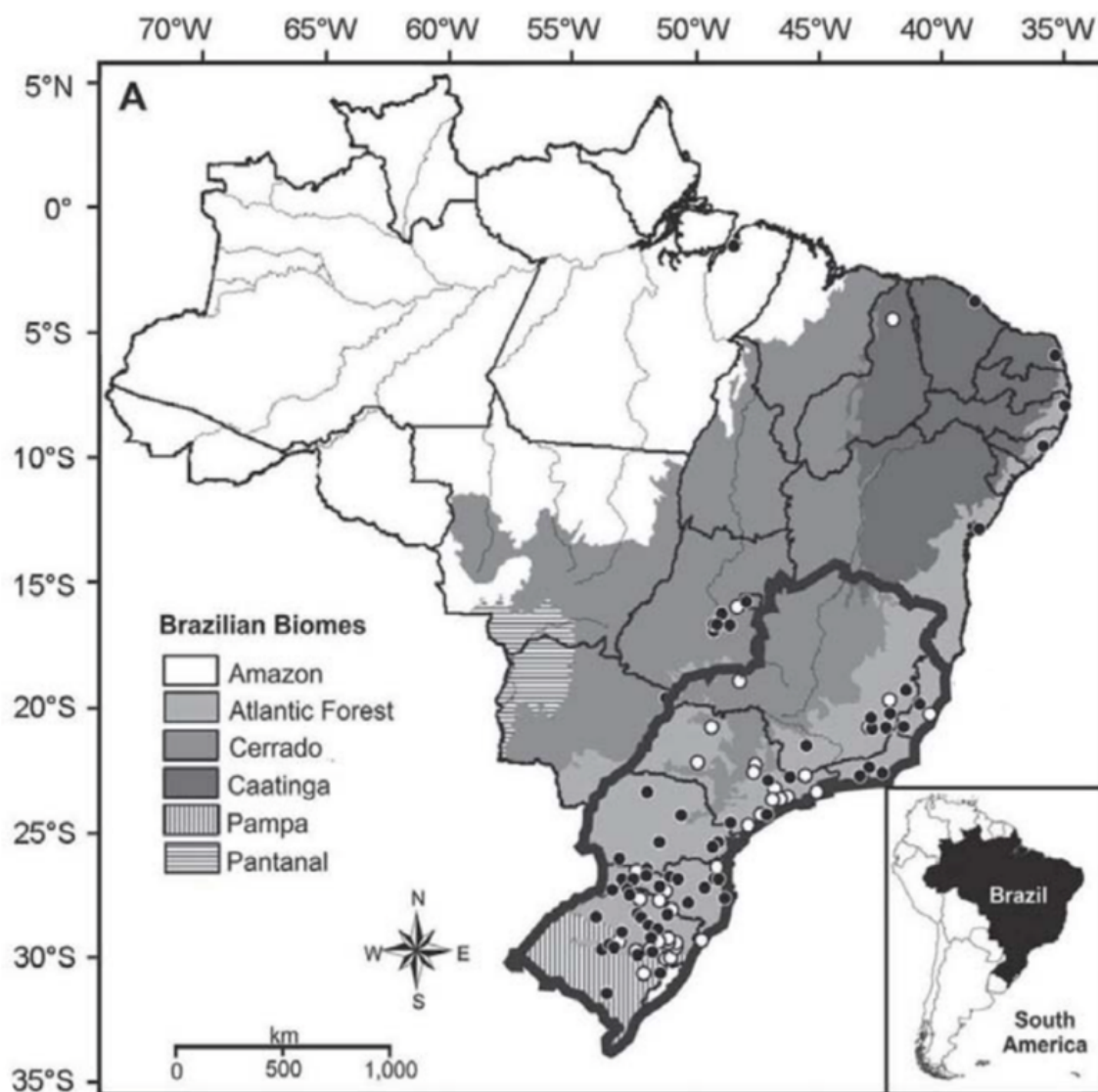


Figura 1: Distribuição de *Litobathes catesbeianus* no Brasil. Os pontos em preto indicam registros da espécie por Giovanelli *et al.* (2008) e em branco, por Both *et al.* (2011). Fonte: Both *et al.* (2011).

Na maioria dos anuros, machos emitem vocalizações espécie-específicas como sinais acústicos que estão ligados a diversas funções, entre elas a defesa de território e atração de fêmeas (Wells, 2007). Assim, espécies que evoluíram em simpatria empregaram estratégias que minimizam a interferência no nicho acústico, através da alteração nos padrões de sinais e, assim, evitando mascaramento dos sinais (Taper & Case, 1992; Rabin *et al.*, 2003). Logo, fatores

que influenciam a transmissão desses sinais são determinantes na ecologia desses indivíduos, por desafiar o potencial de ajuste das populações e por ser incompatível com a divisão de nicho acústica das espécies nativas (Goutte *et al.*, 2013; Rabin *et al.*, 2003). Qualquer tipo de som, tanto abiótico quanto biótico, incluindo a vocalização de espécies invasoras, pode afetar a comunicação entre espécies nativas (Dubois & Martens, 1984; Brumm & Todt 2002; Brumm & Slabbekoorn, 2005; Holt *et al.*, 2011; Both & Grant, 2012; Farina *et al.*, 2013; Bleach *et al.*, 2015).

O canto de anúncio dos machos da rã-touro é considerado uma importante fonte de ruído ambiente, ocupando uma faixa de frequência ampla, com variação entre 90 e 4000 Hz (picos de concentração de energia: 200 - 400 Hz e 1000 - 2000 Hz) e apresenta pouca degradação tanto em ambientes aquáticos quanto terrestres. Seu amplo espectro de vocalização, além de coincidir com a banda de frequências dominantes de muitas espécies nativas no Brasil, também é altamente eficiente na propagação do sinal (Capranica, 1968; Bee, 2004; Llusia *et al.*, 2013).

Uma série de estudos sobre as respostas de anuros a sons ambientes são encontrados na literatura (e.g. Schwartz & Wells, 1983; Sun *et al.*, 2005; Penna *et al.*, 2005; Bee & Swanson, 2007; Bee, 2008; Kaiser & Hammers, 2009; Parris *et al.*, 2009; Wong *et al.*, 2009; Kaiser *et al.*, 2011). Both e Grant (2012) mostraram em um experimento que a exposição do canto da rã-touro fez com que machos da espécie nativa *Boana albomarginatus* alterassem significativamente seus parâmetros de canto, sendo que tais mudanças podem afetar negativamente o sucesso reprodutivo em espécies nativas, e em um experimento com várias espécies nativas com e sem sobreposição espectral com canto da rã-touro, Medeiros *et al.* (2017) encontraram diversas respostas ao canto da rã-touro, incluindo alteração na taxa de emissão de sons (*signal rate*), na frequência do sinal e na duração das notas.

Os experimentos de Both e Grant (2012) e Medeiros *et al.* (2017) demonstram claras e fortes respostas acústicas em espécies nativas brasileiras à exposição ao canto da rã-touro. Porém, os experimentos anteriores mediram as respostas imediatas a exposições de 5min em machos individuais, enquanto as

invasões acústicas reais duram meses e afetam comunidades inteiras simultaneamente. É possível que as respostas à exposição a longo prazo sejam diferentes do que as observadas a curto prazo. Por exemplo, os indivíduos podem abandonar o sítio reprodutivo, optando por um lugar sem a rã-touro, ou podem alterar a atividade acústica em escalas diferentes, mudando os períodos de vocalização ou produzindo cantos apenas nos intervalos dos cantos da rã-touro.

De acordo com o exposto acima, o objetivo geral deste trabalho é entender a resposta a médio prazo no nível da comunidade de anuros sob uma simulação de invasão acústica de rã-touro. Especificamente, queremos avaliar a variação das respostas acústicas de comunidades nativas de anuros frente à exposição do canto da rã-touro, utilizando duas abordagens: i. riqueza e composição de espécies e ii. parâmetros bioacústicos espécie-específicos. A priori, esperamos uma diminuição na riqueza e na composição de espécie na comunidade, assim como alterações em parâmetros acústicos das espécies nativas que persistem no sítio de reprodução.

OBJETIVOS

GERAL

Avaliar experimentalmente as respostas de comunidades nativas de anuros à simulação de invasão acústica de *Lithobates catesbeianus* ao longo de uma estação reprodutiva.

ESPECÍFICOS

- i. Testar os efeitos da invasão acústica de rã-touro na riqueza e composição de espécies em comunidades nativas de anuros;
- ii. Compreender se a invasão acústica de rã-touro gera mudanças nos parâmetros acústicos de determinadas espécies nativas;
- iii. Fornecer dados empíricos a respeito do impacto da invasão da rã-touro para apoiar políticas de conservação.

MATERIAIS E MÉTODOS

COLETA DE DADOS

ÁREA DE ESTUDO

Realizamos o estudo na Estação Ecológica de Santa Bárbara (EEcSB) (Figura 2), no município de Águas de Santa Bárbara, SP, Brasil (-22.817322, -49.23625), localizada em uma zona de contato entre Cerrado e Mata Atlântica, porém ocupada quase que completamente por vegetação de Cerrado, com predominância das fisionomias abertas. O clima é do tipo Cwa, ou seja, quente e úmido com inverno seco, com precipitação anual entre 1000 e 1300mm, concentrada no período de Dezembro a Fevereiro, podendo ocorrer eventos pluviométricos de alta intensidade. A temperatura média anual varia entre 17°C e 24°C (Melo & Durigan, 2011). Conduzimos a pesquisa em quatro pontos localizados nos campos úmidos da EEcSB (Figura 3), entre Janeiro e Março de 2020.

Araújo *et. al* (2013) e Fiorillo e Martins (2021) registraram 37 espécies de anfíbios anuros em EEcSB, distribuídas em cinco famílias: Bufonidae (2 espécies), Hylidae (17 espécies), Leptodactylidae (13 espécies), Microhylidae (3 espécies) e Odontophrynidae (2 espécies) (Tabela 1). A riqueza é superior quando comparada às unidades de conservação do estado de São Paulo com predomínio de formações de Cerrado. As espécies mais abundantes nos campos úmidos foram *Chiasmocleis albopunctata*, *Elachistocleis cesarii*, *Eupemphix nattereri*, *Physalaemus centralis*, *P. cuvieri*. Até o momento não há registro da ocorrência de *Lithobates catesbeianus* em EEcSB (Melo & Durigan, 2011; Araújo *et. al*, 2013; Fiorillo & Martins, 2021).

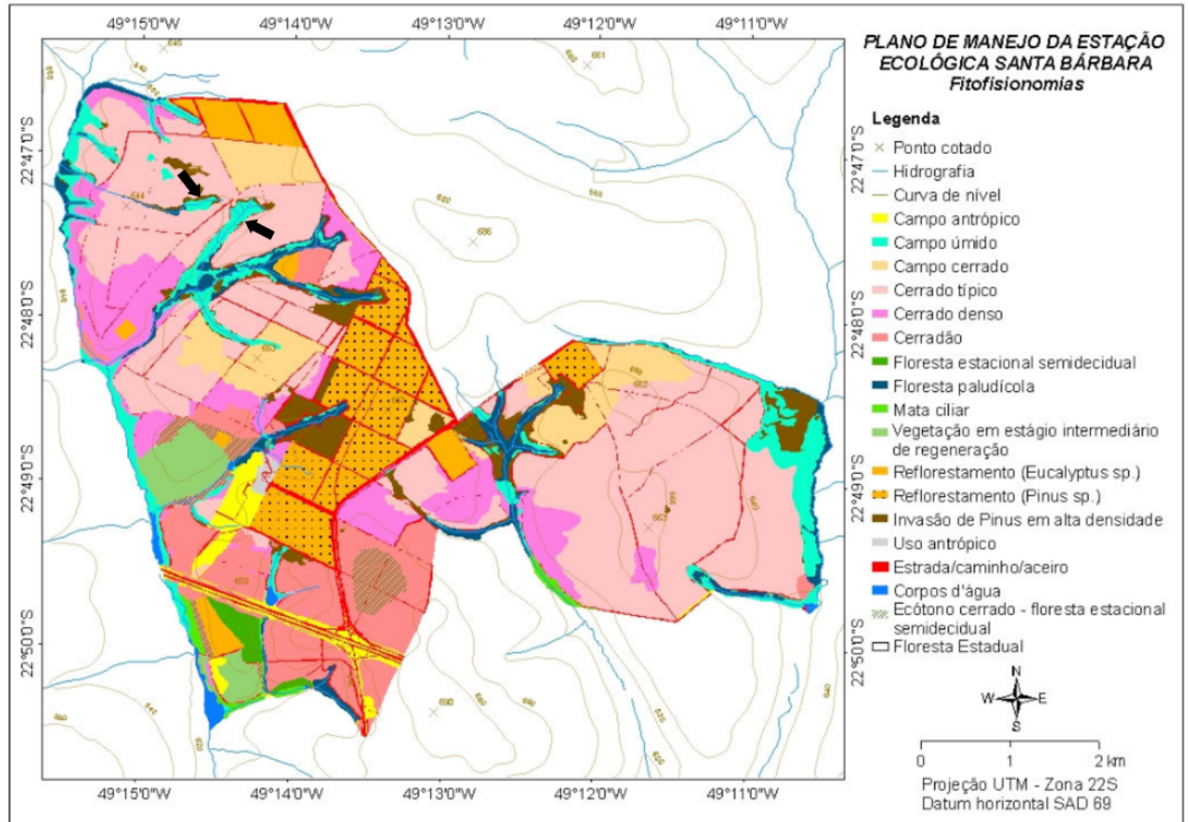


Figura 2: Fitofisionomias da Estação Ecológica de Santa Bárbara. As setas pretas na parte superior da imagem indicam os dois campos úmidos utilizados nesse trabalho. Fonte: Melo & Durigan (2011).

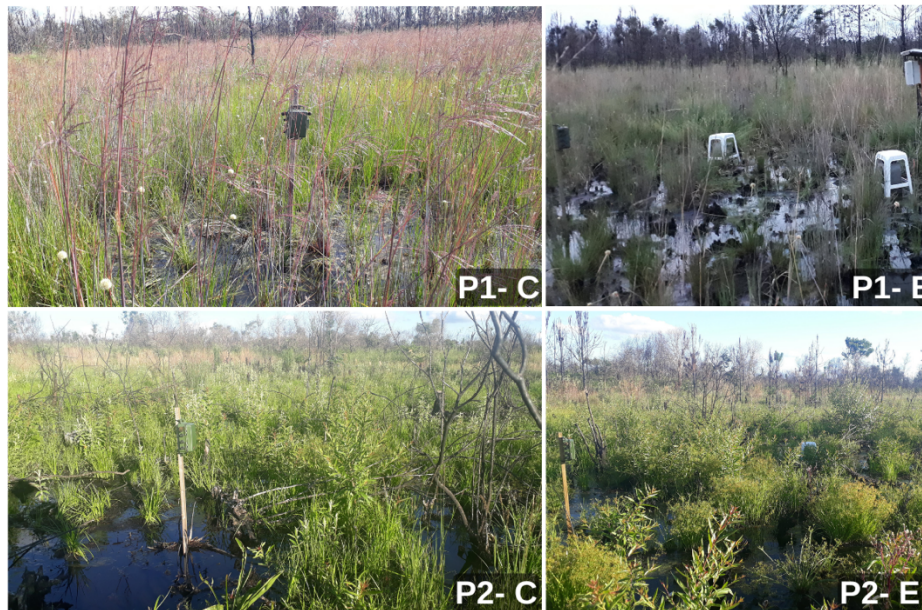
A**B**

Figura 3: Pontos utilizados no experimento localizados nos campos úmidos da EECSB. I: Imagem de satélite indicando os pontos e as distâncias entre os tratamentos controle e experimental em cada ponto. P1- C: Ponto 1- Controle (-22.78894, -49.2453); P1- E: Ponto 1- Experimental (-22.78892, -49.24321); P2- C: Ponto 2- Controle (-22.79116, -49.24044); P2- Experimental (-22.79011, -49.2393). II: Imagens dos pontos mostrando a visão geral do habitat utilizado. Fotos: Juliana Primon.

Tabela 1 Lista de espécies de anuros da Estação Ecológica de Santa Bárbara. Fonte: A - Araújo *et. al* (2013); B - Fiorillo e Martins (2021).

Família	Espécie	Fonte
Bufonidae	<i>Rhinella ornata</i>	A; B
	<i>Rhinella schneideri</i>	A; B
Hylidae	<i>Aplastodiscus perviridis</i>	A;B
	<i>Boana albopunctata</i>	A;B
	<i>Boana caingua</i>	A; B
	<i>Boana faber</i>	B
	<i>Boana lundii</i>	A; B
	<i>Dendropsophus elianae</i>	A; B
	<i>Dendropsophus jimi</i>	A; B
	<i>Dendropsophus microps</i>	A
	<i>Dendropsophus minutus</i>	A; B
	<i>Dendropsophus nanus</i>	B
	<i>Itapotihyla langsdorffii</i>	A
	<i>Phyllomedusa tetraploidea</i>	A; B
	<i>Scinax berthae</i>	A
	<i>Scinax fuscomarginatus</i>	A; B
	<i>Scinax fuscovarius</i>	A; B
<i>Scinax silimis</i>	A; B	
<i>Scinax squalirostris</i>	A	
Microhylidae	<i>Chiasmocleis albopunctata</i>	A; B
	<i>Elaschistocleis bicolor</i>	A; B
	<i>Elaschistocleis cesarii</i>	A; B
Leptodactylidae	<i>Eupemphix nattereri</i>	A; B

	<i>Leptodactylus furnarius</i>	A; B
	<i>Leptodactylus fuscus</i>	A; B
	<i>Leptodactylus sertanejo</i>	A
	<i>Leptodactylus labyrinthicus</i>	A; B
	<i>Leptodactylus luctator</i>	A; B
	<i>Leptodactylus mystaceus</i>	A
	<i>Leptodactylus mystacinus</i>	A; B
	<i>Leptodactylus sertanejo</i>	B
	<i>Physalaemus centralis</i>	A; B
	<i>Physalaemus cuvieri</i>	A; B
	<i>Physalaemus marmoratus</i>	A; B
	<i>Pseudopaludicola cf. murundu</i>	A; B
Odontophrynidae	<i>Odontophrynus americanus</i>	B
	<i>Odontophrynus cf. cultipres</i>	A*

*Registro apenas na coleção do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo

DESENHO EXPERIMENTAL

Para testar se a presença de *L. castebeianus* afeta comunidades nativas de anuros, executamos um experimento que respeitou três premissas: (i) isolamento de possíveis causas de alterações na comunidade nativa, utilizando a presença da rã-touro como única variável dependente; (ii) implementação no ambiente natural e (iii) eliminação da possibilidade da espécie invasora escapar. Para simular a presença de *L. catesbeianus*, utilizamos sua vocalização a partir da reprodução de *playbacks* em caixas de som.

Selecionamos dois pontos para executar os experimentos, Ponto 1 (P1) e Ponto 2 (P2), sendo cada um deles composto por um tratamento controle (C) e um experimental (E), definidos aleatoriamente: P1-C, P1-E, P2-C e P2-E (Figura 3). Os tratamentos controle e experimental de cada ponto são equivalentes em

riqueza e composição de anuros (ver Resultados) e nas características ambientais (temperatura, umidade relativa, luminosidade, profundidade da água e tipo de vegetação), uma vez que pertencem ao mesmo corpo d'água e estão a menos de 300m de distância um do outro (Figura 3).

Instalamos um gravador automático em cada um dos quatro pontos e, nos dois pontos experimentais, acrescentamos também três caixas de som para simular a invasão acústica de três indivíduos de *L. catesbeianus* (Figura 4).

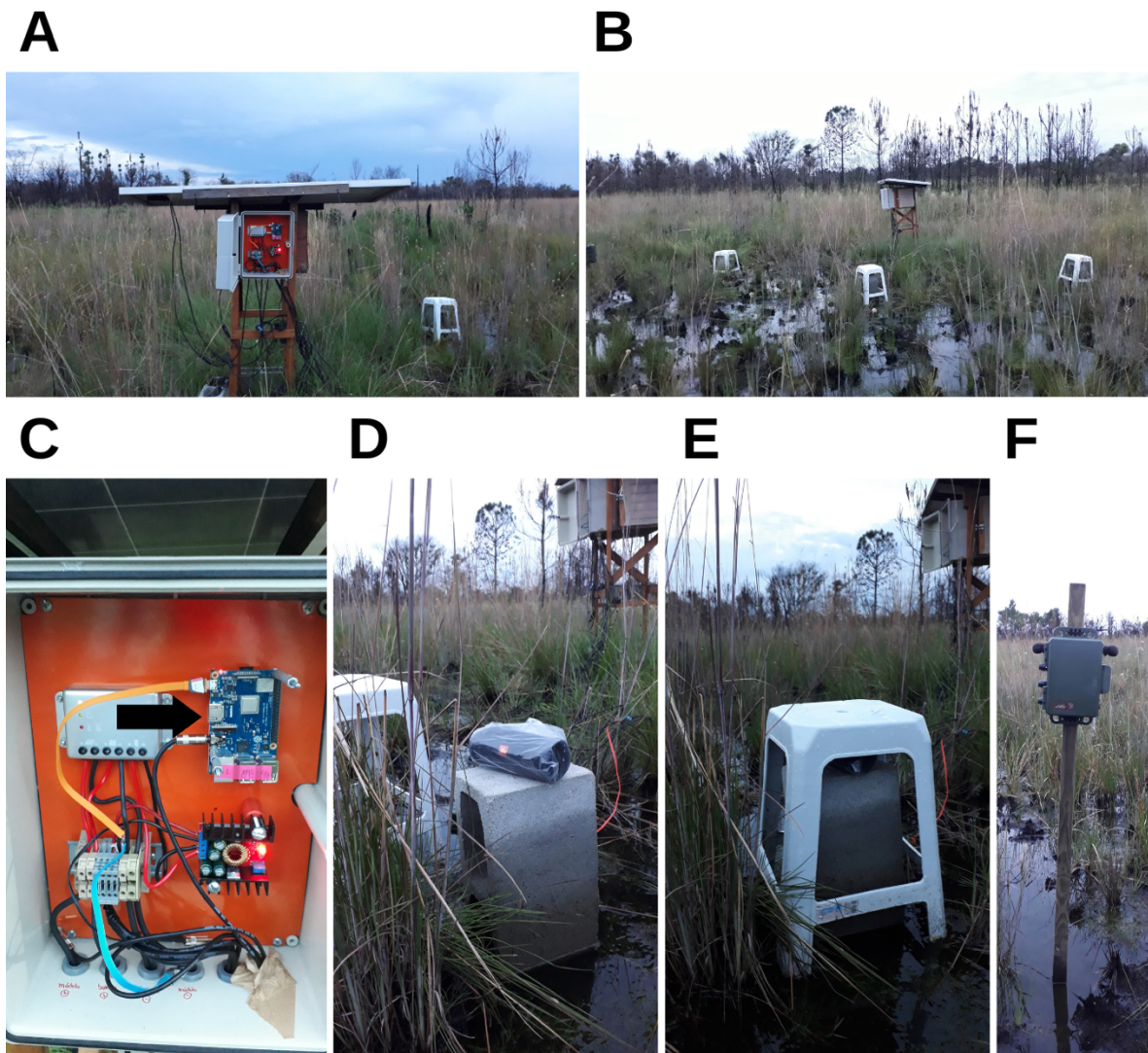


Figura 4 Experimento realizado em campo. A: Estação de energia solar. B: Visão geral do experimento, com a estação de energia solar ao fundo e três caixas de som simulando a presença de três indivíduos de rã-touro. C: Detalhes da caixa com componentes elétricos. A seta preta mostra a placa *Raspberry Pi 3*. D: Caixa de som. E: Proteção da caixa de som. F: Gravador SM4. Fotos: Juliana Primon.

AUTOMATIZAÇÃO EXPERIMENTAL

Para automatizar a reprodução das vocalizações de rã-touro construímos uma estação de energia solar itinerante e as instalamos nos pontos experimentais. Essa estação alimentou a bateria das três caixas de som e de três microcomputadores do tipo *Raspberry Pi 3*, que foram conectados às caixas. O conjunto de uma caixa e uma *Raspberry Pi 3* representou a presença de um indivíduo invasor (Figura 4). Em cada microcomputador, armazenamos um *playback* da vocalização de uma rã-touro e programamos o horário de funcionamento para reprodução do canto (Apêndice 1).

A metodologia desenvolvida permitiu que as caixas de som funcionassem sem a necessidade da presença de um ser humano para realizar a atividade, diminuindo a perturbação no ambiente com potencial para afetar a vocalização das espécies de anuros, permitindo a realização do experimento à médio prazo e em mais de um local ao mesmo tempo.

GRAVAÇÃO

Para amostragem acústica, instalamos gravadores automáticos *Song Meter SM4* (*Wildlife Acoustics*, Maynard, Massachusetts, EUA) com microfones omnidirecionais a aproximadamente 80cm do solo, com cerca de 3m de distância das caixas de som, funcionando a uma taxa de amostragem de 16.000Hz, sem filtro de frequência, com ganho de 10dB e pré-amplificação de 26dB (*default*) nos canais direito e esquerdo. Salvamos arquivos de áudio em formato *wav* não compactado de 16 bits, estéreo em cartões microSD de 32 GB.

Coletamos as gravações no período de 15/01/2020 a 16/03/2020 no P1 e de 05/02/2020 a 16/03/2020 no P2. Programamos os equipamentos para gravar 1min a cada 10min, totalizando 6min de gravação por hora, no período das 16h às 6h, resultando em 16.935min de gravação (e.g 16.935 arquivos de áudio com 1min de duração) (10.284min no P1 e 6.651min no P2) (Tabela 2). A dinâmica de amostragem é considerada adequada para realizar o levantamento acústico de comunidades de anuros durante o período reprodutivo no Cerrado, com menor

gasto de memória, bateria e fornecendo uma quantidade gerenciável de dados (Pieretti *et al.*, 2015).

Tabela 2 Quantidade total de arquivos de gravação de 1min obtidos, filtrados e amostrados, separadas por ponto, período e tratamento. PE = pré-experimento; DE = durante o experimento; C = Controle; E = Experimental.

Ponto	1				2				
	Período		DE		PE		DE		
	15 a 23/01/2020		23/01 a 16/03/2020		05 a 14/02/2020		14/02 a 16/03/2020		
Tratamento	C	E	C	E	C	E	C	E	
Nº de gravações									Total
Total	673	672	4469	4470	732	729	2623	2567	16935
Após filtragem	537	537	2009	2009	687	687	2227	2227	10920
Após amostragem	150	150	600	600	150	150	600	600	3000

PLAYBACK

Para tornar a simulação da invasão acústica da rã-touro mais verossímil, gravamos duas populações de rã-touro (Piedade, São Paulo: -23.710758, -47.368133; Embu das Artes, São Paulo: -23.631298, -46.820664) durante aproximadamente 2h em novembro de 2018, entre 19h e 23h. Registramos a média do número de notas por canto e da quantidade de cantos por minutos para obter os valores para montar três *playbacks*. (Tabela 3).

Tabela 3 Quantidade média de notas por canto e de cantos por minuto de duas populações de *Lithobates catesbeianus*. Os valores médios considerando as duas populações foram utilizados para determinar a dinâmica de vocalização dos *playbacks*.

População	Quantidade média de notas por canto	Quantidade média de cantos por minuto
Piedade	3.66	5.86
Embu das Artes	3.38	0.58
Média	3.52	3.22

Analizamos as vocalizações de 16 indivíduos de *L. catesbeianus* de localidades distintas para englobar a variabilidade acústica intraespecífica, diminuindo o viés de uma possível resposta da comunidade de anuros à um determinado canto. Escolhemos as três vocalizações de melhor qualidade, levando em consideração o ruído de fundo e sobreposição com outros sons, e com frequência dominante diferentes entre si, para representar a invasão de três indivíduos de rã-touro e produzir os *playbacks* (Tabela 4).

Nos três *playbacks*, os cantos apresentaram uma sequência de quatro notas e intervalo de 14.5s entre eles, valor necessário para obedecer tanto a quantidade média de notas por canto, quanto de cantos por minuto de pelo menos duas rãs. O intervalo entre as notas seguiu o valor das vocalizações originais dos indivíduos escolhidos. Para as rãs 1 e 3, selecionamos quatro notas do canto aleatoriamente e para rã 2, selecionamos a com maior amplitude, que foi repetida quatro vezes (Figura 5). Utilizamos o *Audacity* v. 2.3 (Audacity Team, 2018) para montar a sequência de notas e estabelecer as durações citadas. Para alcançar uma amplitude entre 75 e 85dB (Megela-Simmons, 1984; Both & Grant, 2012; Medeiros *et al.*, 2017) medida a 1m da fonte emissora com decibelímetro na ponderação C, utilizamos a função "Amplificar" do *Audacity* (Audacity Team, 2018). para amplificar os áudios da rã 1 (amplificação = 8 dB) e da rã 3 (amplificação = 10dB); para a rã 2, esse procedimento não foi necessário.

Tabela 4 Parâmetros acústicos dos *playbacks*. Áudios da rã 1 e 2 disponíveis em <https://californiaherps.com/frogs/pages/l.catesbeianus.sounds.html> e rã 3 fornecido por André Afonso em 2018.

Parâmetros Acústicos	Rã 1	Rã 2	Rã 3
Número de Notas por Canto	4	4	4
Duração das Notas (s)	0.7 - 0.76	0.6	0.53 - 0.6
Intervalo entre Notas (s)	0.7	0.75	0.51 - 0.53
Notas por Minuto	12	14	16
Cantos por Minuto	3	3	4
Duração do Canto (s)	5	4.7	3.75
Intervalo entre Cantos (s)	14.5	14.5	14.5
Frequência Máxima (Hz)	6033	4088	5002
Frequência Mínima (Hz)	60	70	74
Frequência 5% (Hz)	172	93	344
Frequência 95% (Hz)	1507	1312	2153
Largura da Banda de Frequência 90% (Hz)	1335	1218	1808
Frequência Central (Hz)	258	750	1248
Frequência Dominante (Hz)	215	187	387

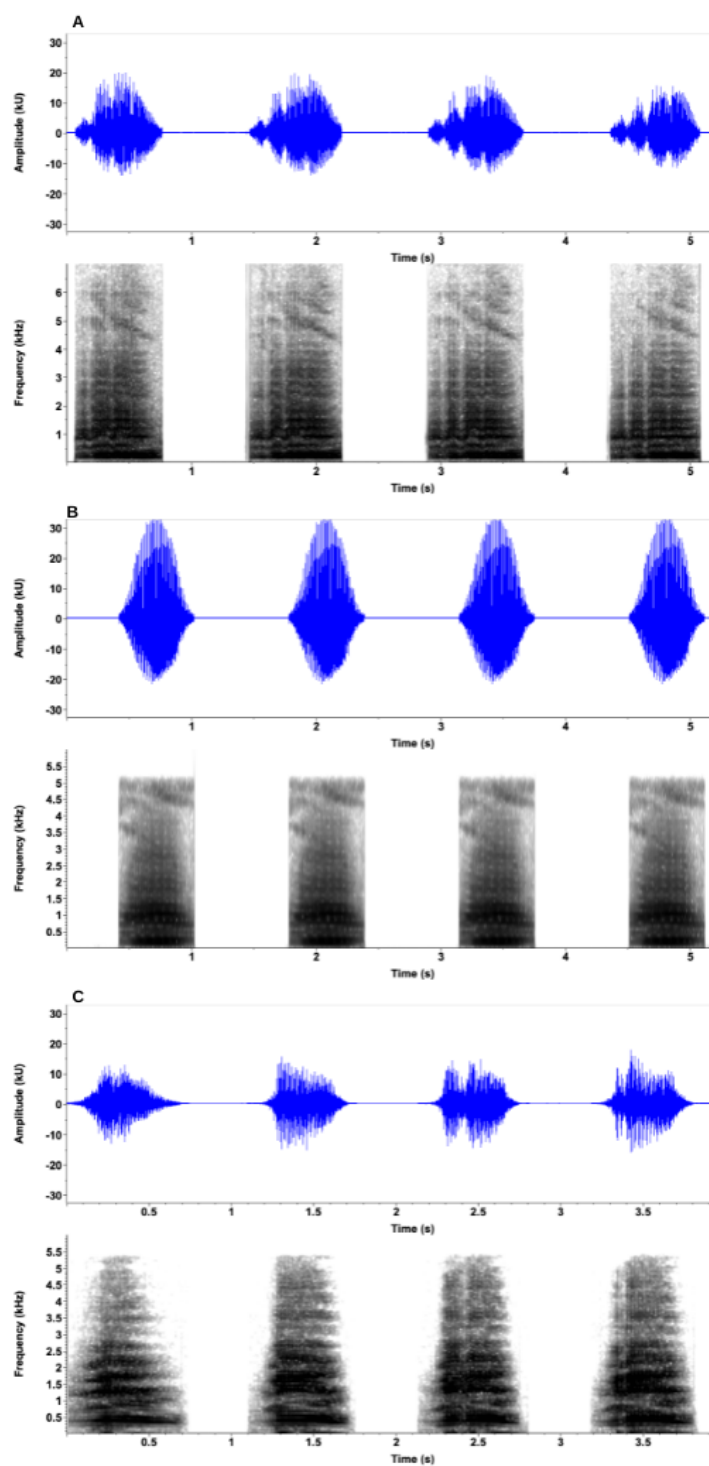


Figura 5 Oscilogramas (acima) e espectrogramas (abaixo; Janela Hann, sobreposição 50%, resolução 1024 FFT) das vocalizações de rã touro utilizadas como playback. (A) Rã 1, frequência dominante = 215.3Hz, (B) Rã 2, frequência dominante = 187.5Hz; (C) Rã 3, frequência dominante = 387.6Hz.

Utilizamos o *Raven Pro* v.1.5 (Bioacoustics Research Program, 2014), para gerar oscilogramas e espectrogramas e obter os parâmetros temporais e espectrais dos *playbacks*, respectivamente.

PERÍODO PRÉ-EXPERIMENTO

Antes da realização do experimento de simulação, avaliamos a equivalência na riqueza e composição de espécies dos tratamentos em cada ponto, o que chamamos de período pré-experimento. Essa etapa foi crucial na interpretação dos resultados obtidos durante o experimento, porque pudemos nos basear no conhecimento prévio da comunidade e evitar erros de interpretação dos resultados. Por exemplo, suponha que durante o experimento a riqueza no tratamento experimental foi significativamente menor do que no controle. A interpretação lógica seria afirmar que a simulação da invasão acústica da rã-touro afetou a riqueza da comunidade. Porém, sem o conhecimento prévio da diferença da riqueza entre os tratamentos, não saberíamos se o experimental já apresentava menor riqueza. Ressaltamos que não comparamos os dados entre os períodos, uma vez que nosso experimento focou em diminuir ao máximo outras variáveis que poderiam afetar as comunidades, mantendo apenas a presença da rã-touro como diferença entre os tratamentos. Esclarecido isso, no P1, o período pré-experimento resultou em 1.345min de gravação, ocorrendo de 15 a 23/01/2020 e no P2, em 1.461min de 05 a 14/02/2020 (Tabela 2).

PERÍODO DURANTE O EXPERIMENTO

No P1, o experimento ocorreu entre os dias 23/01 e 16/03/2020, resultando em 8.939min de gravação e no P2, ocorreu entre os dias 14/02 e 16/03/2020, totalizando 5.190min de gravação (Tabela 2). As gravações no tratamento controle e experimental de cada local ocorreram no mesmo instante, ou seja, gravamos exatamente no mesmo momento a comunidade controle e experimental. Esse delineamento diminui a detecção de possíveis efeitos decorrentes de variáveis ambientais na dinâmica acústica dos anuros.

Nos dois tratamentos experimentais, instalamos três caixas de som modelo JBL FLIP 4 com, no mínimo, 4m de distância uma da outra e com aproximadamente 3m de distância do gravador (Figura 4). Programamos cada *Raspberry Pi 3* para reproduzir o *playback* das 18h, 18h01 e 18h02 às 6h, a fim de sobrepor com o período de vocalização das comunidades nativas da estação ecológica (obs. pessoal) e evitar a sobreposição completa das três vocalizações simuladas. A intensidade sonora média dos *playbacks* foi de 82.2 dB no P1-E e de 81.2 dB no P2-E, medidos por um decibelímetro (Instrutherm, 500 digital) na ponderação C a 1m de distância das caixas de som.

Por conta de problemas técnicos com os aparelhos, que não fomos capazes de solucionar ao longo do experimento, houve variação na quantidade da simulação de rãs invasoras, sendo que na maior parte do tempo, apenas duas rãs funcionaram em cada ponto.

PREPARAÇÃO DE DADOS

Realizamos todas as visualizações de áudios no *Raven Pro v.1.5* (Bioacoustics Research Program, 2014), utilizando espectrogramas com as configurações *default* (Janela Hann, sobreposição 90%, resolução 512 *Fast Fourier Transformation* - FFT).

FILTRAGEM DE ARQUIVOS

Realizamos uma filtragem superficial nos arquivos com o objetivo de eliminar as gravações que apresentavam interferências significativas, (e.g. sons antropogênicos, excesso de geofonia, recortes na gravação, artefatos sonoros eventuais emitidos pelas caixas de som) que pudessem impedir e/ou prejudicar as análises dos áudios. A partir da inspeção visual dinâmica dos espectrogramas de todos os áudios (16.935), deletamos os arquivos com interferências significativas presentes em mais de 1/3 do tempo de gravação. Utilizamos critérios subjetivos tanto para estabelecer o que é um chiado como "considerável", quanto para definir o tempo de interferência na gravação, uma vez que seria extremamente

dispendioso e dispensável analisar de forma meticulosa manualmente quase 17 mil arquivos.

Para garantir a análise das gravações de momentos equivalentes dos pontos controle e experimental, mantivemos apenas os arquivos resultantes da filtragem em comum entre ambos. Por exemplo, se a gravação do ponto P2-C S4A08400_20200205_213000.wav foi deletada pela presença de voz humana, a gravação do P2-E S4A08339_20200205_213000.wav também foi excluída. Dessa forma, mantivemos as gravações simultâneas no ponto controle e experimental de cada local. Ao final do processo de filtragem, mantivemos 10.920 arquivos na nossa base de dados, sendo 5.092 no P1 e 5.828 no P2 (Tabela 2).

TRATAMENTOS DE ÁUDIOS

Com o intuito de facilitar as análises dos áudios, realizamos dois tratamentos nos arquivos: filtro de frequência e filtro de dB. No *Raven Pro 1.5* (Bioacoustics Research Program, 2014), utilizamos a função "*Band Filter*" para diminuir o ruído de fundo, eliminando sons abaixo de 100Hz. Escolhemos esse limiar porque, apesar da vocalização da rã-touro apresentar uma faixa de frequência que pode variar de 90-4000 Hz, a frequência fundamental (90 – 130Hz) contém relativamente pouca energia sonora (Capranica, 1965 *apud* Bee, 2004; Capranica, 1968), dessa forma eliminamos um mínimo de frequência dos *playbacks* melhorando satisfatoriamente a audição dos áudios. Além disso, após análise visual dinâmica, não identificamos nenhuma vocalização abaixo desse limiar. No mesmo *software*, a partir da função "*Multiply by factor*" com valor de 0.5, atenuamos a amplitude do som, ação que favoreceu a análise visual e auditiva dos sinais sonoros de interesse (Kohler *et al.*, 2017).

AMOSTRAGEM DE ARQUIVOS

Dos 10.920 arquivos resultantes da filtragem, realizamos uma amostragem aleatória para reduzir a complexidade analítica. Utilizamos a função *sample* disponível no R (R Development Core Team 2022) para sortear 150 arquivos do período pré-experimental e 600 arquivos do período experimental dos pontos P1-C

e P2-C. Escolhemos esse N amostral baseado tanto no tempo de análise para cada áudio quanto na representatividade adequada da comunidade de anuros, que será demonstrada adiante através da curva de acumulação de espécies. Nos pontos P1-E e P2-E, amostramos os arquivos de mesmo dia e horário dos pontos controle. No total, a amostragem resultou em 3.000 gravações (Tabela 2).

ANÁLISE DE DADOS

Exceto quando especificado, realizamos todas as análises de áudios do P1 no *Automated Remote Biodiversity Monitoring Network* – ARBIMON (Aide *et al.*, 2013) e do P2 no *Raven Pro* v.1.5 (Bioacoustics Research Program, 2014), utilizando as mesmas configurações do tópico "Preparação de Dados", exceto quando especificado. Primeiro, apresentaremos as informações a respeito do período pré-experimento, porém grande parte se repete no período experimental.

Nos dois períodos, as análises de riqueza, composição e parâmetros acústicos (o último apenas no período experimental) compararam apenas P1-C com P1-E e P2-C com P2-E. Essas comparações permitiram avaliar a influência da simulação da invasão acústica da rã-touro em momentos equivalentes no tratamento controle e experimental, evitando ao máximo outras fontes de variação entre os tratamentos que poderiam afetar de alguma forma o comportamento acústico dos anuros. Como variáveis abióticas (umidade relativa do ar, precipitação, temperatura do ar e luminosidade) influenciam diretamente a atividade acústica dos anuros (Wells, 2007), é relevante destacar que assumimos que as comunidades dos tratamentos em cada ponto estavam sujeitas a condições ambientais semelhantes, por estarem a menos de 300m de distância entre si e por termos utilizado os áudios simultâneos para avaliar riqueza e composição. Para compreender melhor a relevância biológica das diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos controles e experimentais, também consideramos os padrões encontrados no período pré-experimento em cada ponto, porém sem comparar os períodos.

Construímos curvas de acumulação de espécie para os quatro pontos, com o objetivo de verificar se a quantidade de amostras selecionadas era o suficiente para amostrar a riqueza local de anuros. Utilizamos a função *specaccum*, do pacote *vegan* (Oksanen *et al.*, 2013) do R (R Core Team 2022), com os argumentos *method = "random"*, *permutations = 1000* e *gamma = "bootstrap"* (Figura 6).

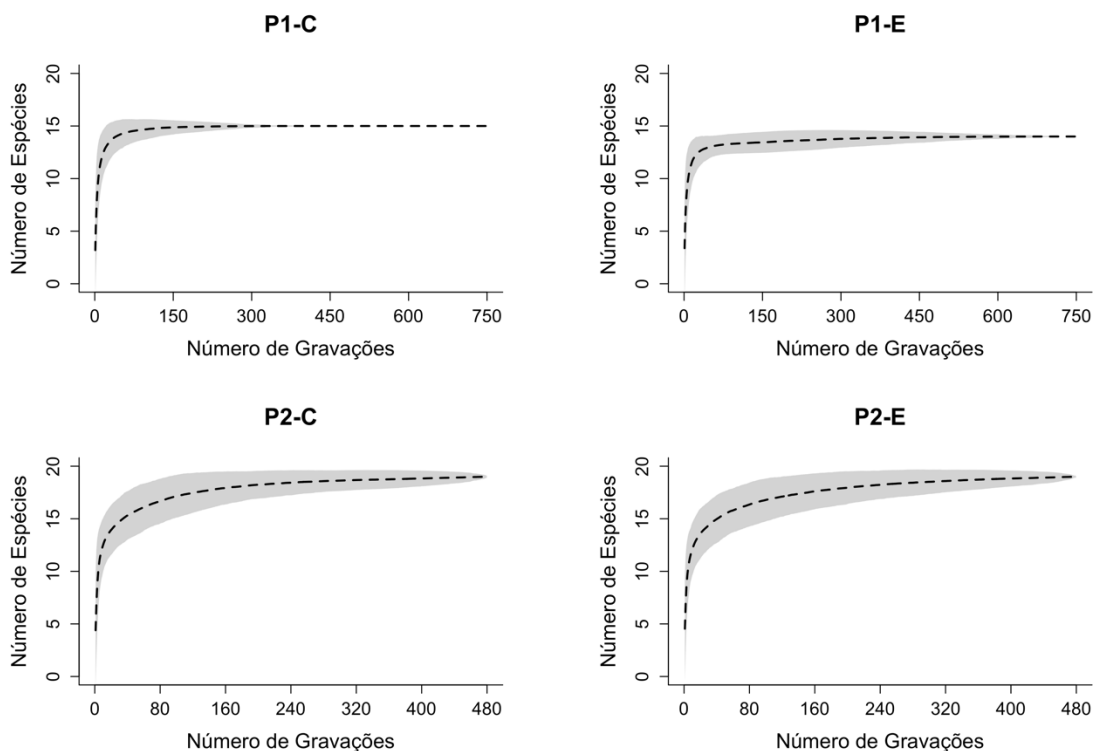


Figura 6 Curvas de acumulação de espécies mostrando que, para os quatro pontos, a quantidade de áudios analisadas foi suficiente para amostrar a riqueza de anuros de cada área.

Realizamos todas as análises estatísticas e a construção de gráficos no R (R Core Team, 2022) no ambiente *RStudio* (RStudio Team, 2022). Consideramos como significativo valores de $p < 0.05$. Utilizamos a abordagem de máxima verossimilhança para construção de modelos. Em todos os testes, a presença/ausência da rã-touro é a variável preditora.

PERÍODO PRÉ-EXPERIMENTO

Análise de Riqueza

Comparamos a riqueza média de anuros entre P1-C e P1-E e entre P2-C e P2-E antes da realização do experimento para garantir certa equivalência das comunidades comparadas. Primeiro, analisamos P2 através do reconhecimento manual de espécies e no P1 optamos pela abordagem semiautomática.

A metodologia de reconhecimento manual apresenta uma acurácia maior quando comparada com as análises automáticas ou semiautomáticas, aumentando a probabilidade de reconhecer cantos com menor intensidade sonora, com variações intraespecíficas e de espécies raras (Acevedo *et al.*, 2009; Digby *et al.*, 2013; Farina & Gage, 2017). Além disso, não é necessário o conhecimento prévio da composição de espécies do local analisado. Porém, o monitoramento acústico passivo por meio de gravadores automáticos gera uma enorme quantidade de dados, dificultando o gerenciamento das gravações e análises manuais (Farina & Gage, 2017). Então, há um *trade-off* entre acurácia e N amostral possível de ser analisado. Para o primeiro momento das análises e com as metodologias disponíveis até então, consideramos a abordagem manual mais adequada para aquisição dos dados de riqueza.

Para o segundo momento, optamos por utilizar o algoritmo *Pattern Matching* (PM), metodologia semiautomática de reconhecimento de espécies no ARBIMON (Aide *et al.*, 2013). A partir da definição de uma pontuação limite e do número de *matches per recording*, o PM retorna automaticamente possíveis detecções de regiões de interesse (ROIs), que apresentam uma pontuação de correspondência com um *template* pré-determinado. Quanto maior a pontuação de um ROI, maior a probabilidade da detecção ser positiva verdadeira. Quanto menor o limite estabelecido, maior a quantidade de falsos positivos retornados pelo algoritmo. Quanto maior a quantidade determinada de *matches per recording*, maior as chances de retorno de ROIs positivas verdadeiras. Para evitar a presença de falsos positivos no final da análise, é necessário validar manualmente os ROIs. Essa nova metodologia permite aumentar o número de gravações

analisadas em menos tempo. Porém, diminui a acurácia por conta da possibilidade da não identificação do canto quando está presente (falso negativo) e necessita de um conhecimento prévio consistente das espécies do local estudado.

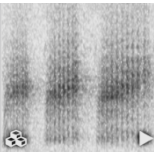
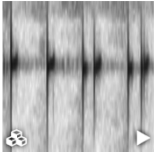
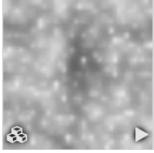
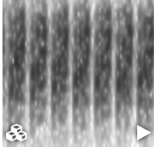

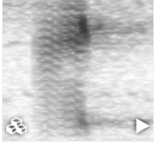


Na maioria das gravações não conseguimos diferenciar com clareza as vocalizações das espécies *Leptodactylus labyrinthicus* e *L. luctator* e *Scinax fuscovarius* e *S. similis*, o que dificultou a identificação tanto durante as análises manuais e semiautomáticas. As gravações incluem toda paisagem acústica e, na maioria das vezes, os cantos de interesse apresentam sobreposição com outras vocalizações ou não possuem uma amplitude adequada para diferenciação confiável entre espécies com sinais acústicos semelhantes. Para minimizar os possíveis erros de identificação, tratamos os cantos dessas espécies em conjunto: "*L. labyrinthicus/luctator*" e "*S. fuscovarius/similis*".

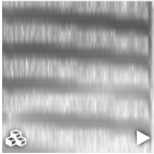

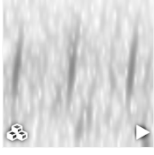



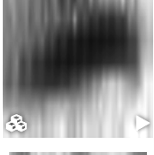

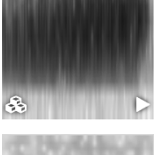

Ponto 1



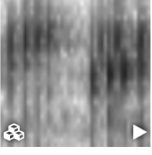
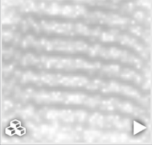
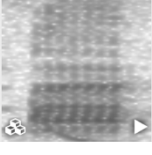
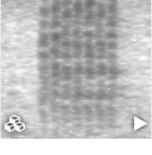
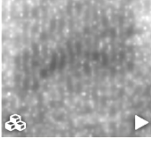
Por meio de listas de levantamento e guias de fauna da região (Araújo et al, 2013; M. Martins, comunicação pessoal, novembro de 2018; Fiorillo & Martins, 2021) e análise prévia do P2, selecionamos 25 espécies possíveis para analisar (Tabela 5). Utilizamos a abordagem semiautomática *Pattern Matching* do ARBIMON (Aide et al., 2013) descrita acima para obter os dados de riqueza em 300 gravações (150 no P1-C e 150 P1-E).

Criamos *templates* a partir de vocalizações previamente identificadas e sem sobreposição com outros cantos, provenientes do P2 e, quando ausente nesse local, utilizamos cantos do Guia Interativo dos Anfíbios da Fazenda Rio Claro (Maffei et al., 2011) ou buscamos o sinal da espécie de interesse nas gravações do P1 (Tabela 5). Selecionamos o limite = 0.2, valor que gerou um alto número de falsos positivos, mas que foi capaz de captar variações nos cantos. Definimos como cinco a quantidade de correspondências por gravação, ou seja, o algoritmo retornou cinco detecções por gravação, quando possível. Para revisar e deletar a presença de ROIs falsas positivas, fizemos a validação manual das detecções, classificando-as como "presente" ou "ausente" (Figura 7). Por fim, registramos a riqueza de anuros encontrada em cada gravação.

Tabela 5 Espécies analisadas no ARBIMON para acessar a riqueza local e *templates* utilizados.

Espécie	Fonte do <i>template</i>	<i>Template</i>	Faixa de frequência e duração do <i>template</i>
<i>Boana albopunctata</i>	S4A08400_20200217_041000.wav		884 – 4320Hz 1.65s
<i>B. caingua</i>	Hypsiboas caingua (Maffei <i>et al.</i> , 2011)		1456 – 4395Hz 1.05s
<i>B. faber</i>	Hypsiboas faber (Maffei <i>et al.</i> , 2011)		752 – 1748Hz 0.22s
<i>Chiasmocleis albopunctata</i>	S4A08404_20200131_233000.wav		4033 – 5181 0.62s
<i>Dendropsophus jimi</i>	S4A08404_20200127_004000.wav		3272 – 4533Hz 0.11s
<i>D. minutus</i>	S4A08339_20200220_040000.wav		1997 – 5934Hz 0.34s
<i>D. nanus</i>	Dendropsophus nanus (Maffei <i>et al.</i> , 2011)		2351 - 6107Hz 2.42s
<i>D. sanborni</i>	Dendropsophus sanborni (Maffei <i>et al.</i> , 2011)		3245 – 7716Hz 0.86s

<i>Elaschistocleis cesarii</i>	S4A08339_20200227_213000.wav		2772 – 3569Hz 1.09s
<i>Eupemphix nattereri</i>	S4A08404_20200201_015000.wav		465 – 1445Hz 0.39s
<i>Leptodactylus furnarius</i>	S4A08404_20200126_194000.wav		2929 – 3578Hz 0.46s
<i>L. fuscus</i>	S4A08404_20200124_234000.wav		973 – 2221Hz 0.25s
<i>L. sertanejo</i>	Fornecida por Márcio Martins (2016)		537 – 3322Hz 0.21s
<i>L. labyrinthicus</i>	Leptodactylus labyrinthicus (Maffei et al., 2011)		74 – 765Hz 0.33s
<i>L. luctator</i>	S4A08400_20200218_001000.wav		47 – 616Hz 0.28s
<i>L. mystacinus</i>	S4A08404_20200130_224000.wav		1778 – 2667Hz 0.35s
<i>Odontophrynus americanus</i>	Odontophrynus americanus (Maffei et al., 2011)		410 – 1381Hz 0.68s
<i>Physalaemus centralis</i>	S4A08404_20200209_191000.wav		463 – 1372Hz 0.28s

<i>P. cuvieri</i>	S4A08400_20200227_213000.wav		375 – 932Hz 0.4s
<i>P. marmoratus</i>	S4A08400_20200215_013000.wav		300 – 659Hz 0.6s
<i>Pseudopaludicola murundu</i>	Fornecida por Márcio Martins (2016)		4462 - 7209Hz 0.26s
<i>Scinax fuscomarginatus</i>	S4A08400_20200219_050000.wav		2216 – 3764Hz 0.33s
<i>S. fuscovarius</i>	S4A08339_20200217_235000.wav		575 – 3495Hz 0.31s
<i>S. similis</i>	S4A08339_20200217_235000.wav		260 - 3968Hz 0.34s
<i>S. squalirostris</i>	S4A08404_20200213_210000.wav		4468 – 6248Hz 0.42s

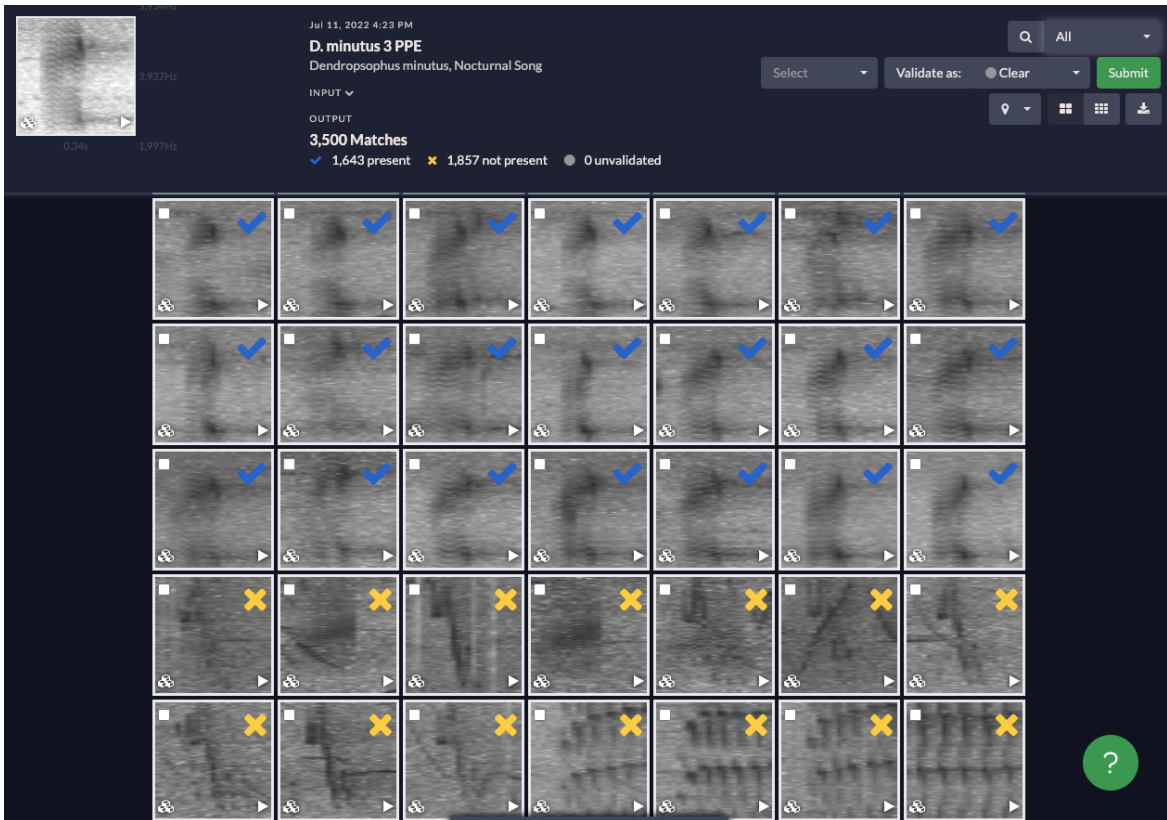


Figura 7 Exemplo de validação manual (presente ou ausente) dos ROIs no ARBIMON.

Ponto 2

Obtivemos os dados de riqueza de 300 gravações (150 no P2-C e 150 P2-E) através do reconhecimento manual das vocalizações das espécies de anuros a partir dos espectrogramas do canal esquerdo das gravações, anotando a presença das espécies (Figura 8). Em seguida, compilamos a riqueza de anuros encontrada em cada gravação.

Estatística

Fizemos a estatística descritiva dos dados de riqueza a partir do cálculo da média, máximo, mínimo e desvio padrão.

Dados de riqueza são do tipo contagem, que tendem a obedecer a distribuição Poisson. Geramos modelos lineares generalizados GLMs a fim de testar se há diferença significativa entre a riqueza no P1-C e P1-E e entre P2-C e P2-E.

Comparamos quatro tipos de GLM: (i) GLM Poisson, (ii) GLM Quasi-Poisson, (iii) GLM Binomial Negativo e (iv) GLM Poisson com zero inflado. Para selecionar o modelo mais adequado aos dados utilizamos como critério a diferença entre o desvio dos resíduos e graus de liberdade, exceto para GLM Poisson com zero inflado, que não apresenta o desvio dos resíduos. Quanto menor for o valor da diferença, mais adequado é o modelo. Para comparar os três modelos com GLM Poisson com zero inflado, utilizamos o Teste de Vuong. Não utilizamos o Critério de Informação de Akaike (AIC) porque esse valor não existe tanto no GLM Quasi-Poisson e quanto no GLM Poisson com zero inflado.

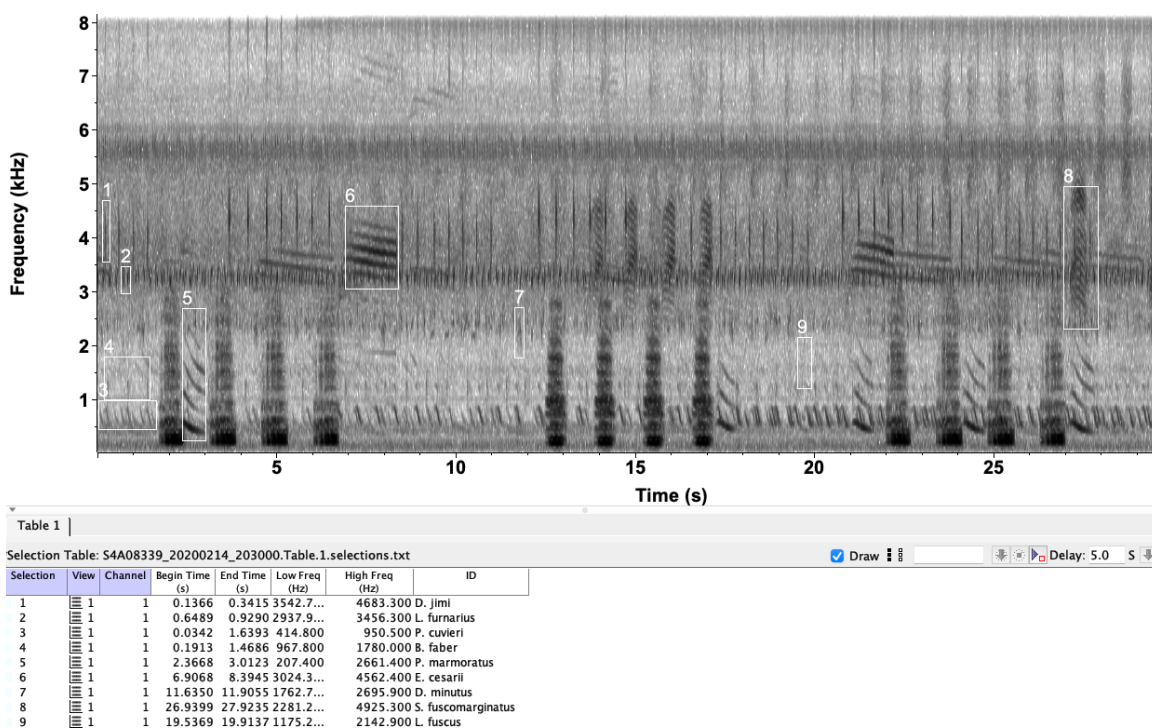


Figura 8 Exemplo de anotação manual das espécies presentes na gravação para acessar a riqueza de anuros. Gravação: S4A08339_20200214_203000.wav.

Análise de Composição de Espécies

Para descrever e comparar a composição de espécies de anuros no período pré-experimento entre P1-C e P1-E e entre P2-C e P2-E, utilizamos os dados de identificação gerados durante a análise da riqueza descrita acima. Nos

quatro pontos, compilamos a quantidade de gravações em que cada espécie estava presente, criando uma matriz codificada de ausência (0) e presença (1).

Calculamos proporções de presença a partir da matriz, dividindo o número de gravações que a espécie estava presente pelo número total de gravações do ponto. Utilizamos esses valores para calcular as porcentagens de presença de cada espécie em cada ponto.

Estatística

Para verificar se há diferença na composição geral, utilizamos os valores de proporção para gerar um Modelo Linear Generalizado Misto (GLMM) Binomial, com "espécie" como efeito aleatório. Para verificar a diferença em cada espécie, utilizamos os valores de proporção para gerar GLM Binomial para comparar as espécies individualmente em P1-C com P1-E e P2-C com P2-E (Kindt & Coe, 2005; Hair *et al.*, 2006).

PERÍODO EXPERIMENTAL

Para trabalhar com os dados referentes ao período experimental, realizamos as análises de dados da mesma maneira que no período pré-experimento. As diferenças nos dados entre os dois períodos estão na quantidade de áudios utilizados e no acréscimo da análise de parâmetros acústicos de espécies no P2.

Análise de Riqueza

Ponto 1

Utilizamos a abordagem semiautomática *Pattern Matching* do ARBIMON (Aide *et al.*, 2013) para obter os dados de riqueza em 1200 gravações (600 no P1-C e 600 P1-E). Para mais detalhes, veja o tópico "Análise de Riqueza" do período pré-experimental.

Ponto 2

Obtivemos os dados de riqueza de 660 gravações (330 no P2-C e 330 P2-E) através do reconhecimento manual das vocalizações das espécies de anuros. Para mais detalhes, veja o tópico "Análise de Riqueza" do período pré-experimental. O número reduzido de gravações analisadas em comparação ao Ponto 1 deve-se ao fato da metodologia de análise manual ser mais dispendiosa. Então, analisamos a quantidade de gravações necessárias para estabilização da curva de acumulação (Figura 6).

Análise de Composição de Espécies

Utilizamos os dados de identificação gerados durante a análise da riqueza e seguimos as mesmas etapas e análises já descritas realizadas no período pré-experimento.

Análise de Parâmetros Acústicos

Realizamos a análise de parâmetros acústicos de quatro espécies de anuros no P2, comparando o ponto controle e o experimental, para verificar a resposta acústica de determinadas espécies na presença da vocalização da rã-touro. Escolhemos *L. labyrinthicus/luctator* e *P. cuvieri*, que apresentam sobreposição espectral com a espécie invasora e duas espécies com vocalizações fora da faixa de frequência de *L. catesbeianus*: *D. jimi* e *S. fuscumarginatus* (Figura 9; Tabela 6). Optamos por essas espécies porque foram frequentes tanto no P2-C quanto no P2-E e apresentaram vocalizações bem definidas em gravações adequadas para extração da frequência dominante dos cantos, duração do canto e cantos por minuto.

Analisamos o total de 354 arquivos. Para cada espécie, exceto *L. labyrinthicus/luctator*, selecionamos aleatoriamente 50 arquivos com a função *sample*, disponível no R no P2-C e 50 no P2-E. Para *L. labyrinthicus/luctator*, que não estava presente nessa quantidade, utilizamos todas as gravações possíveis (31 gravações para P2-C e 23 para P2-E). Em cada arquivo, escolhemos os cinco cantos com menor sobreposição com outras vocalizações e com limites mais bem

definidos para extração dos parâmetros. Quando não havia cinco cantos da espécie na gravação, analisamos todos os disponíveis. Analisamos o total de 1695 cantos, sendo 473 (234 P2-C e 239 P2-E) de *D. jimi*, 263 (154 P2-C e 109 P2-E) de *L. labyrinthicus/luctator*, 500 (250 P2-C e 250 P2-E) de *P. cuvieri* e 459 (226 P2-C e 233 P2-E) de *S. fuscomarginatus*.

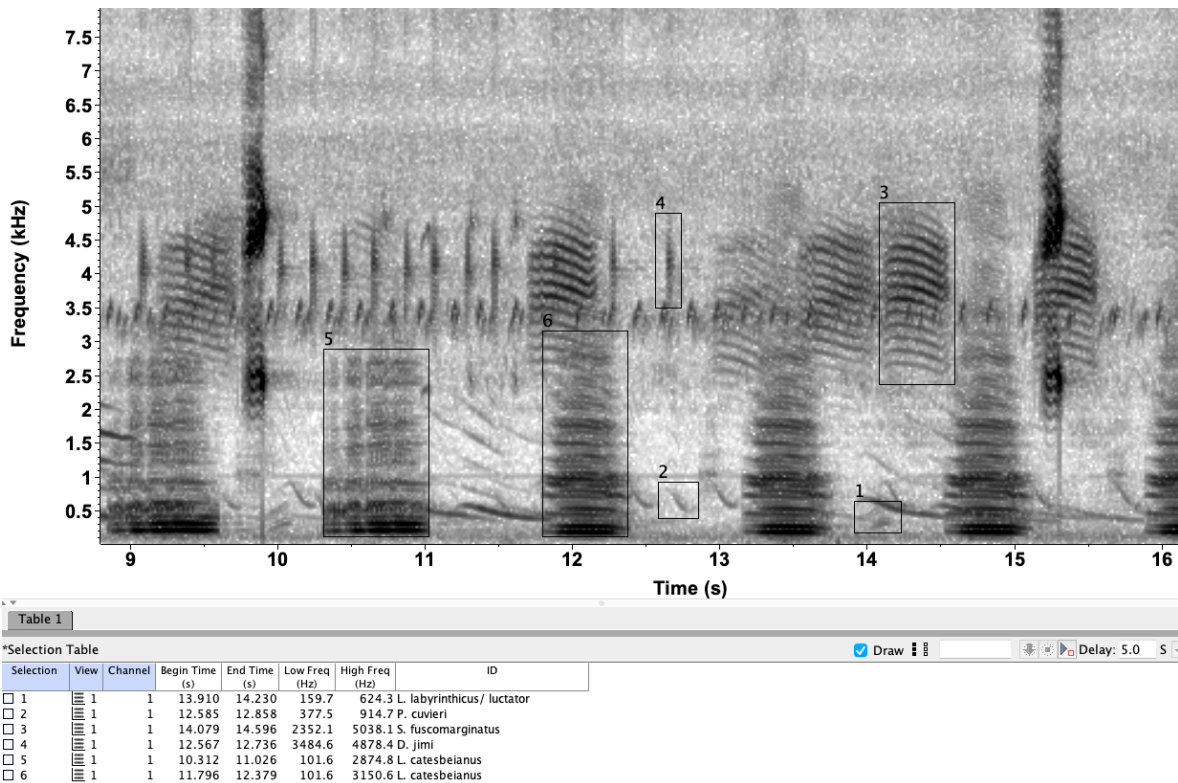


Figura 9 Espectrograma evidenciando as espécies utilizadas para análise dos parâmetros acústicos. Espécies com sobreposição espectral com (5) e (6) *Lithobates catesbeianus*: (1) *Leptodactylus labyrinthicus/ luctator* e (2) *P. cuvieri*; espécies sem sobreposição espectral: (3) *Scinax fuscomarginatus* e (4) *Dendropsophus jimi*.

Tabela 6 Parâmetros espectrais das vocalizações das espécies com e sem sobreposição espectral com *Lithobates catesbeianus*.

Espécie	Faixa de frequência (Hz)	Frequência dominante (Hz)	Sobreposição espectral?	Fonte
<i>L. catesbeianus</i>	90-4000	200-400/ 1000-2000	-	Medeiros <i>et al.</i> (2017)
<i>L. labyrinthicus/ luctator</i>	-	340-390	Sim	Nunes & Junca (2006)
<i>P. cuvieri</i>	340-2540	530-850	Sim	Silva <i>et al.</i> (2008)
<i>S. fuscomarginatus</i>	3300 - 5000	4100 - 4700	Não	Pombal <i>et al.</i> (2005)
<i>D. jimii</i>	2900 - 5100	3900 - 4000	Não	Martins & Jim (2004)

A partir de espectrogramas construídos no *Raven Pro 1.5* (Bioacoustics Research Program, 2014), utilizamos as funções *Peak Frequency* (Hz) para extrair a frequência dominante e *Duration 90%* (s) (duração que possui 90% da energia do canto) para obter a duração do canto. O parâmetro “duração 90%” é recomendado quando os limites de início e final da vocalização de interesse não são claros (Kohler *et al.*, 2017). Para cantos por minuto, contamos a quantidade de vocalizações da espécie em 1min de gravação. Exclusivamente para *L. labyrinthicus/luctator*, construímos espectrogramas com 1024 FFT porque esse valor permitiu uma análise mais clara da vocalização de interesse para essa espécie. O brilho e contraste variou de acordo com o arquivo de áudio, com o objetivo de facilitar a visualização dos limites dos cantos.

Como coletamos os áudios com microfones omnidirecionais, a análise desses dados é limitada por não haver, principalmente, padronização de distância da fonte emissora do som de interesse, além de possíveis interferências com outros sons. Ainda, apesar de espectrogramas não serem recomendados para obtenção de dados temporais (Kohler *et al.*, 2017), consideramos a análise válida porque analisamos todos os áudios utilizando os mesmos critérios. Portanto, os

valores dos parâmetros encontrados aqui não devem ser extrapolados para outras comparações.

Não realizamos essa análise nas gravações de P1 porque a comunidade acústica estava saturada na maior parte dos áudios, fato que dificultou a individualização de vocalizações para extração de parâmetros e poderia gerar maiores erros de medidas, sendo possível apenas verificar ausência ou presença da espécie no local na maioria das gravações.

Estatística

Para as três variáveis resposta (frequência dominante, duração do canto e taxa de cantos por minuto) fizemos, separadamente, a estatística descritiva dos dados de a partir do cálculo da média, máximo, mínimo e desvio padrão.

Como frequência dominante e duração do canto são variáveis contínuas, geramos modelos lineares (LMs) para cada espécie para testar se as diferenças encontradas entre P2-C e P2-E são significativas. Cantos por minuto é uma variável de contagem, portanto geramos e comparamos GLM Poisson, Quasi-Poisson e Binomial Negativo. Seguimos o mesmo critério já descrito em "Análise de Riqueza" para escolher o modelo mais bem ajustado aos dados. Não consideramos o GLM Poisson com zero inflado porque não há valores 0 para cantos por minuto, uma vez que selecionamos apenas áudios com a presença dos cantos.

RESULTADOS

O GLM Binomial Negativo foi o modelo que melhor se ajustou aos dados de riqueza e de cantos por minuto, por apresentar os menores valores da razão entre resíduo do desvio e os graus de liberdade. Para detalhes sobre os outros modelos, veja os Apêndices 2 e 3.

PERÍODO PRÉ-EXPERIMENTO

Riqueza de espécies

Ponto 1

Durante o período pré-experimento encontramos 14 espécies tanto no P1-C quanto no P1-E. A riqueza no P1-C variou de 0 - 8 (3.99 ± 1.63) e no P1-E de 0 - 9 (4.1 ± 2.04). O GLM Binomial Negativo mostrou que não há diferença significativa na riqueza de espécies entre o ponto controle e experimental ($p = 0.62$) (Tabela 7; Figura 10).

Ponto 2

Durante o período pré-experimento, encontramos 17 espécies no P2-C e 15 no P2-E. A riqueza no P2-C variou de 0 - 9 (4.31 ± 2.31) e no P2-E de 0 - 10 (4.2 ± 2.01). O GLM Binomial Negativo mostrou que não há diferença significativa na riqueza de espécies entre o ponto controle e experimental ($p = 0.65$) (Tabela 7; Figura 10).

Tabela 7 Estatística descritiva da riqueza de espécies.

Ponto	Período	Tratamento	Mínimo - máximo (média ± desvio padrão; n)
P1	Pré	Controle	0 – 8 (3.99 ± 1.63; n = 150)
		Experimental	0 – 9 (4.1 ± 2.04; n = 150)
	Durante	Controle	0 -10 (3.11 ± 2.25; n= 600)
		Experimental	0 – 10 (3.22 ± 2.39; n = 600)
P2	Pré	Controle	0 – 9 (4.31 ± 2.31; n = 150)
		Experimental	0 – 10 (4.2 ± 2.01; n = 150)
	Durante	Controle	0 – 11 (4.45 ± 2.84; n = 330)
		Experimental	0 – 10 (4.48 ± 2.6; n = 330)

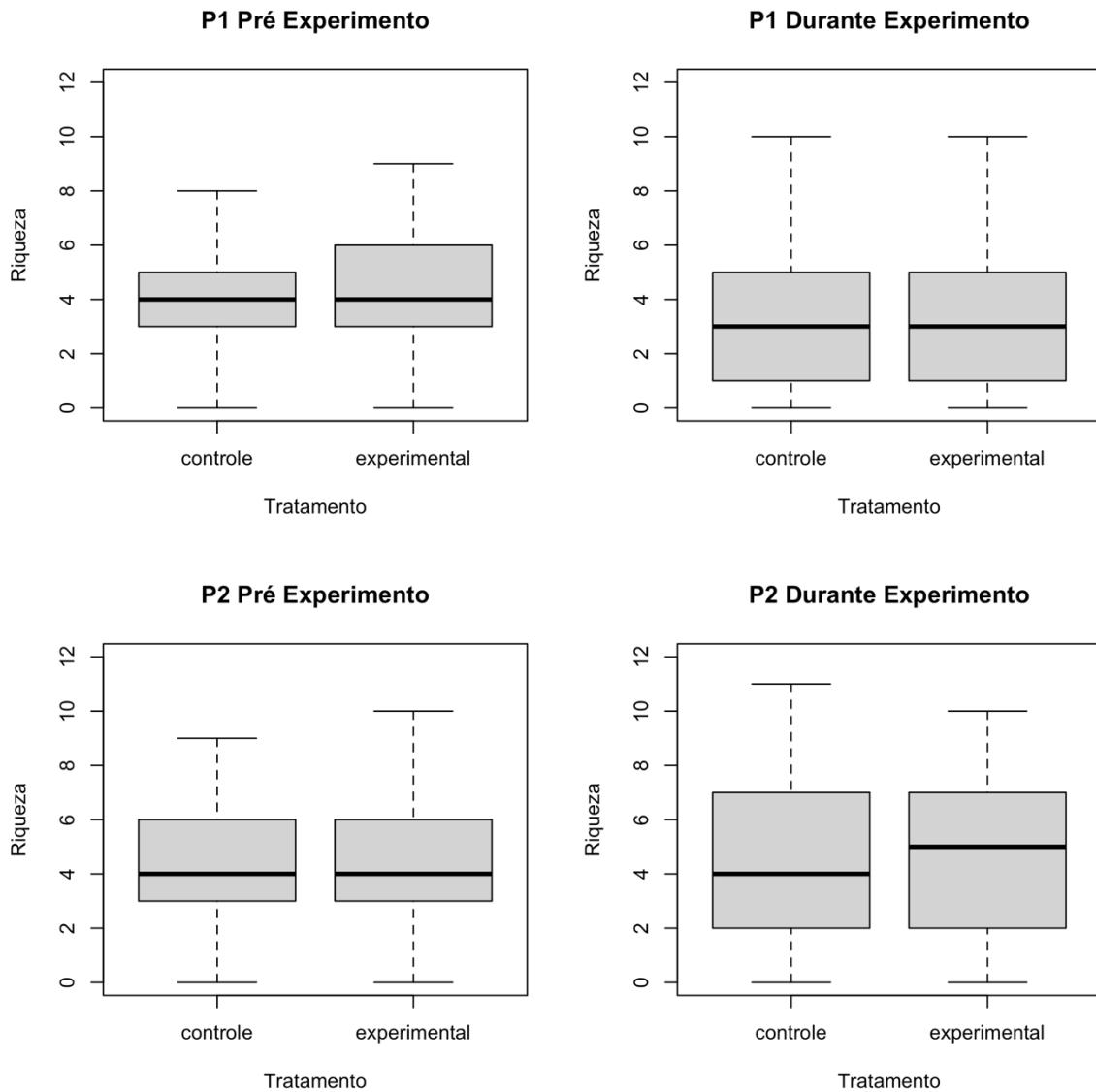


Figura 10 Comparação de riqueza de espécies entre os tratamentos. Tanto pré quanto durante o experimento, não houve diferença na riqueza de espécies de anuros.

Composição de espécies

Ponto 1

Registramos as mesmas espécies no P1-C e P1-E no período pré-experimento: *Chiasmocleis albopunctata*, *Dendropsophus jimi*, *D. minutus*, *Elaschistocleis cesarii*, *Eupemphix nattereri*, *Leptodactylus furnarius*, *L. fuscus*, *L.*

labyrinthicus/luctator, *L. mystacinus*, *Physalaemus cuvieri*, *P. marmoratus*, *Scinax fuscomarginatus*, *S. fuscovarius/similis* e *S. squalirostris*.

No P1-C, a espécie mais frequente foi *L. fuscus*, presente em 92% das gravações, seguida de *D. minutus* (69.3%) e *S. fuscomarginatus* (63.3%). A espécie menos frequente foi *P. cuvieri* (2.7%), seguida de *C. albopunctata* (4.7%) e *P. marmoratus* (6.7%). No P1-E, as espécies mais frequentes foram *L. fuscus* (89.3%), *D. minutus* (65.3%) e *D. jimi* (60.7%) e as menos frequentes foram *C. albopunctata* (0.7%), *E. nattereri* (4.7%) e *P. marmoratus* (7.3%) (Tabela 8).

O GLMM Binomial, com espécie como efeito aleatório, mostrou que não há diferença entre as proporções das espécies no período pré-experimento P1-C e P1-E ($p = 0.47$). Os GLMs Binomial, que compararam as espécies separadamente, apresentaram diferença significativa apenas para três das 14 espécies encontradas: *D. jimi* ($p = 0.015$; P1-C = 46.7% e P1-E = 60.7%), *L. furnarius* ($p = 0.002$; P1-C = 12.7% e P1-E = 26.7%) e *P. cuvieri* ($p = 0.05$; P1-C = 2.7% e P1-E = 8%). Ver tabela 8 para verificar os valores de p para demais espécies.

Ponto 2

No período pré-experimento, registramos *Boana faber* e *L. labyrinthicus/luctator* apenas em P2-C. Os dois pontos apresentaram em comum *B. albopunctata*, *D. jimi*, *D. minutus*, *D. cf. nanus*, *E. cesarii*, *E. nattereri*, *L. furnarius*, *L. fuscus*, *L. sertanejoi*, *P. cuvieri*, *P. marmoratus*, *S. fuscomarginatus*, *S. fuscovarius/ similis*, *S. squalirostris* e sp1.

No P2-C, a espécie mais frequente foi *S. fuscomarginatus*, presente em 65.3% das gravações, seguida de *P. cuvieri* (60%) e *E. cesarii* (47.3%). A espécie menos frequente foi *E. nattereri* (1.3%), seguida de *L. sertanejoi* (2%) e *D. cf. nanus* (3.3%). No P2-E, as espécies mais frequentes foram *S. fuscomarginatus* (80%), *D. jimi* (64.7%) e *P. cuvieri* (54.7%) e as menos frequentes foram *E. nattereri* (0.7%), sp1 (1.3%) e *L. sertanejoi* e *D. cf. nanus* (2%) (Tabela 8).

O GLMM Binomial, com espécie como efeito aleatório, mostrou que há diferença entre as proporções das espécies no período pré-experimento P2-C e

P2-E ($p = 0.02$). Os GLMs Binomiais, que compararam as espécies separadamente, apresentaram diferenças significativas apenas para 4 das 15 espécies em comum encontradas: *B. albopunctata* ($p = 0.0002$; P2-C = 38% e P2-E = 18.7%), *D. jimi* ($p = 5.6e^{-7}$; P2-C = 35.3% e P2-E = 64.7%), *S. fuscomarginatus* ($p = 0.004$; P2-C = 65.3% e P2-E = 80%) e *S. squalirostris* ($p = 7.02e^{-10}$; P2-C = 17.3% e P2-E = 52.6%). Ver tabela 8 para verificar os valores de p para demais espécies.

Tabela 8 Composição de espécies nas gravações analisadas. As porcentagens correspondem a proporção entre a quantidade de gravações que a espécie apareceu e a quantidade total de espécies analisadas. No período pré-experimento, analisamos 150 gravação para cada ponto e tratamento. No período durante o experimento, analisamos 600 gravações para cada tratamento no P1 e 330 no P2. Os valores de p significativos estão em destaque. O “-” representa ausência da espécie no ponto.

Período	Pré-experimento						Durante experimento						
	Ponto - Tratamento	P1-C	P1-E	Valor de p	P2-C	P2-E	Valor de p	P1-C	P1-E	Valor de p	P2-C	P2-E	Valor de p
<i>Aplastodiscus</i> sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.5%	0.3%	0.14
<i>Boana albopunctata</i>	-	-	-	38%	18.7%	0.0002	-	-	-	52.4%	16.4%	<2E-16	
<i>Boana faber</i>	-	-	-	5.3%	-	1	-	-	-	6.4%	2.1%	0.00999	
<i>Chiasmocleis albopunctata</i>	4.7%	0.7%	0.0647	-	-	-	3.2%	0.3%	0.00223	-	-	-	
<i>Dendropsophus jimi</i>	46.7%	60.7%	0.0154	35.3%	64.7%	5.61E-07	16.5%	43.0%	<2E-16	29.7%	45.2%	4.51E-05	
<i>Dendropsophus minutus</i>	69.3%	65.3%	0.46	26.0%	30.0%	0.441	42.5%	49.2%	0.0205	23.3%	46.4%	9.56E-10	
<i>Dendropsophus</i> cf. <i>nanus</i>	-	-	-	3.3%	2.0%	0.478	-	-	-	0.6%	-	1	
<i>Elaschistocleis cesarii</i>	31.3%	23.3%	0.121	47.3%	50.0%	0.644	26.3%	21.2%	0.0358	50.0%	51.5%	0.697	
<i>Eupemphix nattereri</i>	7.3%	4.7%	0.335	1.3%	0.7%	0.569	9.5%	7.5%	0.215	1.2%	1.8%	0.527	
<i>Leptodactylus furnarius</i>	12.7%	26.7%	0.0027	43.3%	41.3%	0.726	5.7%	7.7%	0.166	45.8%	44.5%	0.754	
<i>Leptodactylus fuscus</i>	92.0%	89.3%	0.429	39.3%	39.3%	1	24.2%	20.7%	0.146	8.2%	9.7%	0.496	
<i>Leptodactylus sertanejo</i>	-	-	-	2.0%	2.0%	1	-	-	-	0.6%	3.6%	0.0176	

<i>Leptodactylus labyrinthicus/ luctator</i>	16.0%	18.7%	0.542	11.3%	-	1	2.8%	3.7%	0.417	11.2%	7.3%	0.0828
<i>Leptodactylus mystacinus</i>	16.0%	14.0%	0.628	-	-	-	10.8%	1.8%	1.61E-08	0.3%	-	1
<i>Physalaemus centralis</i>	-	-	-	-	-	-	1.5%	-	1	-	8.8%	1
<i>Physalaemus cuvieri</i>	2.7%	8.0%	0.0501	60.0%	54.7%	0.351	26.0%	13.7%	1.28E-07	55.8%	47.9%	0.0430
<i>Physalaemus marmoratus</i>	6.7%	7.3%	0.821	17.3%	13.3%	0.338	32.5%	30.3%	0.419	34.5%	32.4%	0.564
<i>Scinax fuscomarginatus</i>	63.3%	53.3%	0.079	65.3%	80.0%	0.0047	63.8%	68.7%	0.0768	59.7%	65.2%	0.1482
<i>Scinax fuscovarius/ similis</i>	18.0%	18.0%	1	14.7%	22.0%	0.103	34.2%	33.5%	0.807	18.2%	23.0%	0.124
<i>Scinax squalirostris</i>	12.7%	20.7%	0.0653	17.3%	52.7%	7.02E-10	11.5%	21.0%	1.07E-05	44.2%	42.1%	0.5823
sp1	-	-	-	4.0%	1.3%	0.172	-	-	-	2.1%	0.3%	0.0669

PERÍODO EXPERIMENTAL

Riqueza de espécies

Ponto 1

Durante o período de experimento encontramos 15 espécies no P1-C e 14 no P1-E. A riqueza no P1-C variou de 0 - 10 (3.11 ± 2.25) e no P1-E de 0 - 10 (3.22 ± 2.39). O GLM Binomial Negativo mostrou que não há diferença significativa na riqueza de espécies entre o ponto controle e experimental ($p = 0.44$) (Tabela 7; Figura 10).

Ponto 2

Durante o período de experimento encontramos 19 espécies no P2-C e 18 no P2-E. A riqueza no P2-C variou de 0 - 11 (4.45 ± 2.84) e no P2-E de 0 - 10 (4.48 ± 2.6). O GLM Binomial Negativo mostrou que não há diferença significativa na riqueza de espécies entre o ponto controle e experimental ($p = 0.9$) (Tabela 7; Figura 10).

Composição de espécies

Ponto 1

Registramos *P. centralis* apenas em P1-C, em 1.5% (9 de 600) dos áudios, com aparecimento ocasional em 6 dias não consecutivos, enquanto as demais espécies foram compartilhadas entre P1-C e P1-E no período durante o experimento: *C. albopunctata*, *D. jimi*, *D. minutus*, *E. cesarii*, *E. nattereri*, *L. furnarius*, *L. fuscus*, *L. labyrinthicus/luctator*, *L. mystacinus*, *P. cuvieri*, *P. marmoratus*, *S. fuscomarginatus*, *S. fuscovarius/similis* e *S. squalirostris*.

No P1-C, a espécie mais frequente foi *S. fuscomarginatus*, presente em 63.8% das gravações, seguida de *D. minutus* (42.5%) e *S. fuscovarius/similis* (34.2%). A espécie menos frequente foi *P. centralis* (1.5%), seguida de *L. labyrinthicus/ luctator* (2.8%) e *C. albopunctata* (3.2%). No P1-E, as espécies mais frequentes foram *S. fuscomarginatus* (68.7%), *D. minutus* (49.2%) e *D. jimi* (43%) e as menos frequentes foram *C. albopunctata* (0.3%), *L. mystacinus* (1.8%) e *L. labyrinthicus/ luctator* (3.7%) (Tabela 8).

O GLMM Binomial, com espécie como efeito aleatório, mostrou que não há diferença entre as proporções das espécies no período durante o experimento P1-C e P1-E ($p = 0.17$). Os GLMs Binomiais, que compararam as espécies separadamente, apresentaram diferenças significativas para 7 das 14 espécies em comum encontradas: *C. albopunctata* ($p = 0.002$; P1-C = 3.2% e P1-E = 0.3%), *D. jimi* ($p = < 2e^{-16}$; P1-C = 16.5% e P1-E = 43%), *D. minutus* ($p = 0.02$; P1-C = 42.5% e P1-E = 49.2%), *E. cesarii* ($p = 0.03$; P1-C = 26.3% e P1-E = 21.2%), *L. mystacinus* ($p = 1.61e^{-8}$; P1-C = 10.8% e P1-E = 1.8%), *P. cuvieri* ($p = 1.28e^{-7}$; P1-C = 26% e P1-E = 13.7% e *S. squalirostris* ($p = 1.07e^{-5}$; P1-C = 11.5% e P1-E = 21%). Ver tabela 8 para verificar os valores de p para demais espécies.

Ponto 2

Durante o experimento, registramos *D. cf. nanus* em 0.6% (2 de 330) dos áudios e *L. mystacinus* em 0.3% (1 de 330), apenas em P2-C e *P. centralis* apenas em P2-E, em 8.8% (29 de 330) dos áudios, entre os dias 18 e 19/02/2020 e entre 24 e 26/02/2020. Os dois pontos apresentaram em comum *Aplastodiscus* sp., *B. albopunctata*, *B. faber*, *D. jimi*, *D. minutus*, *E. cesarii*, *E. nattereri*, *L. furnarius*, *L. fuscus*, *L. sertanejo*, *L. labyrinthicus/luctator*, *P. cuvieri*, *P. marmoratus*, *S. fuscomarginatus*, *S. fuscovarius/similis*, *S. squalirostris* e sp1.

No P2-C, a espécie mais frequente foi *S. fuscomarginatus*, presente em 59.7% das gravações, seguida de *P. cuvieri* (55.8%) e *B. albopunctata* (52.4%). A espécie menos frequente foi *L. mystacinus* (0.3%), seguida de *D. cf. nanus* e *L. sertanejo* (0.6%). No P2-E, as espécies mais frequentes foram *S. fuscomarginatus* (65.2%), *E. cesarii* (51.5%) e *P. cuvieri* (47.9%) e as menos frequentes foram *Aplastodiscus* sp. e sp1 (0.3%) e *E. nattereri* (1.8%) (Tabela 8).

O GLMM Binomial, com espécie como efeito aleatório, mostrou que não há diferença entre as proporções das espécies no período durante o experimento P2-C e P2-E ($p = 0.82$). Os GLMs Binomial, que compararam as espécies separadamente, apresentaram diferença significativa para cinco das 17 espécies em comum encontradas: *B. albopunctata* ($p = < 2e^{-16}$; P2-C = 52.4% e P2-E = 16.4%), *B. faber* ($p = 0.009$; P2-C = 6.4% e P2-E = 2.1%), *D. jimi* ($p = 4.51e^{-5}$; P2-

C = 29.7% e P2-E = 45.2%), *D. minutus* ($p = 9.57e^{-10}$; P2-C = 23.3% P2-E = 0.464%) e *L. sertanejai* ($p = 0.01$; P2-C = 0.6% e P2-E = 3.6%). Ver tabela 8 para verificar os valores de p para demais espécies.

PARÂMETROS ACÚSTICOS

A espécie *D. jimi* aumentou a frequência dominante no tratamento experimental e não alterou os parâmetros temporais. Para *L. labyrinthicus/luctator*, verificamos alterações nos três parâmetros: aumento da frequência dominante, diminuição da duração do canto e da quantidade de cantos por minuto. *P. cuvieri* e *S. fuscomarginatus* não alteraram nenhum parâmetro (Figura 11-13; Tabela 9).

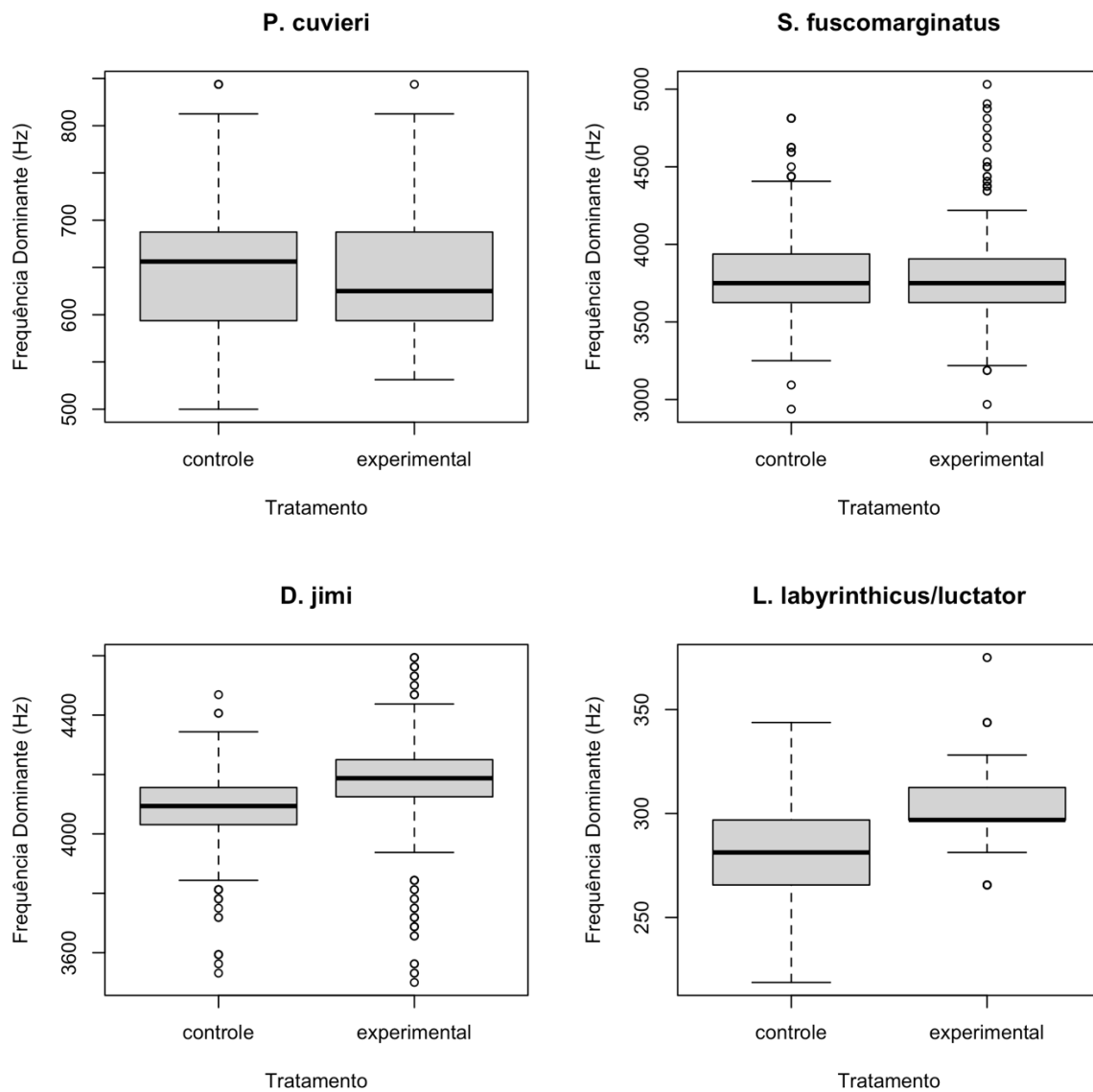


Figura 11 Comparação das frequências dominantes entre os tratamentos. Os círculos representam *outliers*.

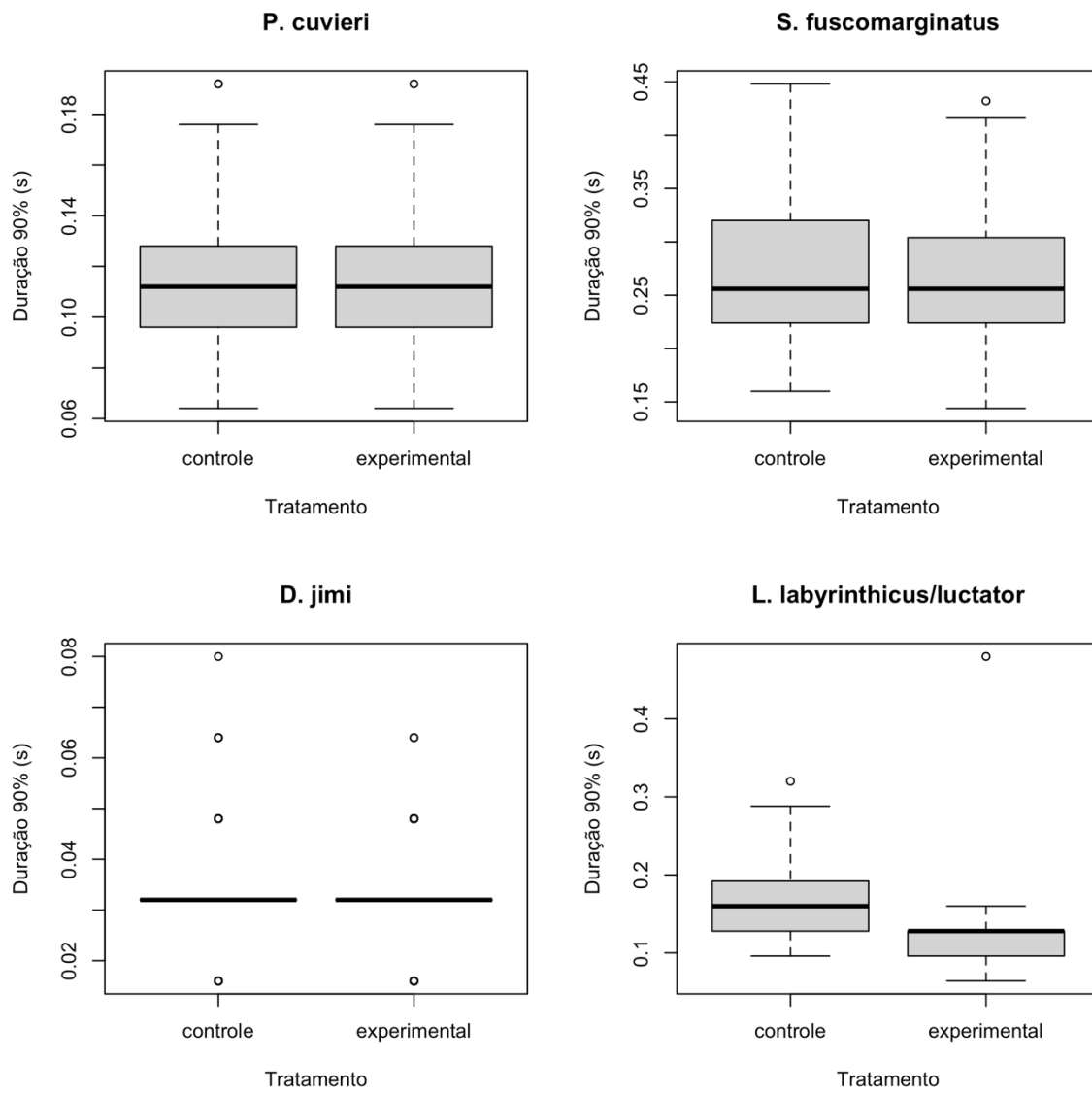


Figura 12 Comparação da duração do canto 90% entre os tratamentos. Os círculos representam *outliers*.

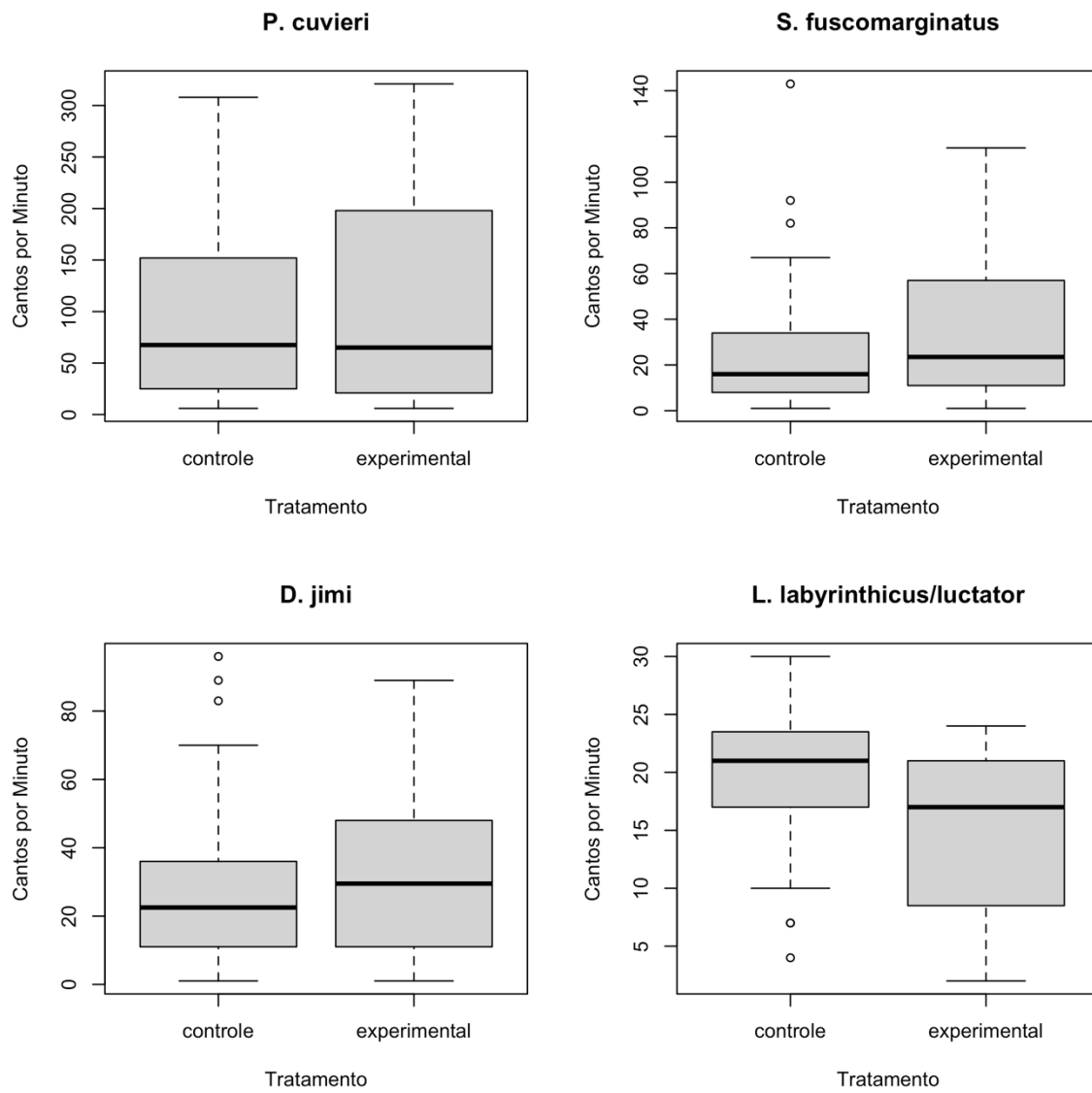


Figura 13 Comparação da quantidade de cantos por minuto entre os tratamentos. Os círculos representam *outliers*.

Tabela 9 Valores dos parâmetros acústicos obtidos para *Dendropsophus jimi*, *Leptodactylus labyrinthicus/luctator*, *Physalaemus cuvieri* e *Scinax fuscomarginatus* em cada tratamento do P2. Os valores são exibidos no padrão mínimo – máximo (média ± desvio padrão; n amostral). Os valores de p resultantes dos modelos lineares (frequência dominante e duração do canto) e do modelo linear generalizado binomial negativo (cantos por minuto) significativos estão em negrito.

Espécie	Frequência dominante (Hz)			Duração do canto 90% (s)			Cantos por minuto		
	Tratamento		p	Tratamento		p	Tratamento		p
	Controle	Experimental		Controle	Experimental		Controle	Experimental	
<i>Dendropsophus jimi</i>	3531.25 - 4468.75 (4082.265 ± 152.137; n = 234)	3500 - 4593.75 (4158.995 ± 201.274; n = 239)	3.94 e⁻⁶	0.016 - 0.08 (0.034 ± 0.011; n = 234)	0.016 - 0.064 (0.032 ± 0.011; n = 239)	0.096	1 - 96 (26.72 ± 21.93; n = 50)	1 - 89 (31.34 ± 22.57; n = 50)	0.334
<i>Leptodactylus labyrinthicus/luctator</i>	218.75 - 343.75 (275.872 ± 23.725; n = 154)	265.625 - 373 (299.025 ± 21.418; n = 109)	1.95 e⁻¹⁴	0.096 - 0.32 (0.172 ± 0.044; n = 154)	0.064 - 0.48 (0.121 ± 0.041; n = 109)	< 2 e⁻¹⁶	4 - 30 (19.774 ± 6.82; n = 31)	2 - 24 (14.826 ± 7.208; n = 23).	0.02
<i>Physalaemus cuvieri</i>	500 - 843.75 (655.625 ± 79.976; n = 250)	531.25 - 843.75 (649.875 ± 72.293; n = 250)	0.399	0.064 - 0.192 (0.117 ± 0.024; n = 250)	0.064 - 0.192 (0.113 ± 0.023; n = 250)	0.078	6 - 308 (100.46 ± 93.012; n = 250)	6 - 321 (107.9 ± 96.691; n = 250)	0.709
<i>Scinax fuscomarginatus</i>	2937.5 - 4812.5 (3817.892 ± 324.119; n = 226)	2968.75 - 5031.25 (3829.533 ± 350.647; n = 233)	0.712	0.16 - 0.448 (0.273 ± 0.063; n = 226)	0.144 - 0.432 (0.265 ± 0.057; n = 233)	0.136	1 - 143 (25.14 ± 28.828; n = 50)	1 - 115 (34.3 ± 30.763; n = 50)	0.102

DISCUSSÃO

RIQUEZA DE ESPÉCIES

Nossos resultados mostram que, como esperado, o tratamento controle e experimental dos dois pontos não apresentaram diferença significativa na riqueza de espécies no período pré-experimento. Porém, tanto no P1 como no P2, durante o experimento, a riqueza se manteve semelhante entre os tratamentos, mostrando que o experimento de simulação da invasão acústica da rã-touro não afetou significativamente a riqueza de espécies nessas comunidades. Esse resultado refuta nossa hipótese inicial, de que a presença da rã-touro diminuiria a riqueza de espécies.

Both *et al.* (2014), ao realizar um estudo para testar a correlação entre a abundância da rã-touro e a riqueza de espécies em poças já invadidas, também encontraram o oposto do esperado: uma fraca relação positiva entre presença de rã-touro e riqueza de anuros, o que sugere que um processo de "aceitação biológica" pode estar operando, no qual as comunidades com maior riqueza têm a capacidade de receber espécies não nativas (Stohlgren *et al.*, 2006). Ao avaliar os efeitos da introdução já estabelecida de *L. catesbeianus* em comunidades naturais, Ferrante *et al.* (2020) também não encontraram correlação entre a presença de rã-touro e a riqueza de espécies. Já Li *et al.* (2011) registraram uma menor riqueza em poças invadidas. As meta-análises de Mollot *et al.* (2017) e Bradley *et al.* (2019) mostraram que a invasão de espécies que ocupam níveis tróficos mais altos, como predadores, resulta em uma significativa diminuição na riqueza de espécies nativas. Além disso, a resposta da comunidade nativa e, conseqüentemente o impacto da espécie invasora, pode ser mais forte quando há baixa abundância da invasora, durante os estágios iniciais da invasão ou quando a riqueza na comunidade nativa não for alta (Bradley *et al.*, 2019). Portanto, a falta de uma redução na riqueza de espécies como resposta à invasão acústica da rã-

touro pode ser devida ao número baixo de invasores simulados (três rãs-touro), ou possivelmente pela curta duração do experimento (um mês).

Espécies invasoras podem afetar negativamente as espécies nativas, diminuindo o tamanho populacional e reduzindo a diversidade de espécies (Bradley *et al.*, 2019), porém não contabilizamos a abundância de indivíduos porque a análise de gravações do tipo *soundscape* associado ao desenho experimental utilizado tornam o acesso à informação de abundância muito imprecisa. Ainda, esses efeitos podem não afetar de fato a presença de espécies de anuros vocalizantes, mas sim desencadear outras respostas de espécies nativas, relacionadas à plasticidade acústica para lidar com as interferências e a invasão do nicho acústico (Both & Grant, 2012; Bleach *et al.*, 2015; Medeiros *et al.*, 2017; Tennessen *et al.*, 2016). De fato, para Kortz e Magurran (2019), apenas a métrica de riqueza de espécies não é um bom preditor de impactos de espécies invasoras, uma vez que as comunidades invadidas tendem a ser menos diferentes umas das outras em termos de composição do que seriam se apenas espécies nativas estivessem presentes.

Os indivíduos interagem, de fato, em escalas espaciais finas, onde se esperam relações negativas como consequência da resistência biótica da comunidade nativa (Elton, 1958 *apud* Both *et al.*, 2014; Both *et al.*, 2014). No entanto, foi demonstrado que não há um padrão estabelecido no qual as espécies nativas são afetadas por invasoras (Both *et al.*, 2014). Argumentamos que a alteração da riqueza pode não ter sido detectada pela nossa metodologia de gravação. Utilizamos gravadores com alta sensibilidade de detecção sonora para registrar o maior número de espécies e variedade de sons. Porém, isso fez com que não fosse possível detectar mudanças em escalas finas, por exemplo, a poucos metros das caixas de som. Então, hipotetizamos que há possibilidade de algumas espécies terem se deslocado para evitar o mascaramento de sinal proporcionado pela invasão acústica, mas não o suficiente para não ser detectada por nossas gravações.

COMPOSIÇÃO DE ESPÉCIES

Nossa análise de composição foi baseada na proporção de presença e ausência das espécies nas unidades amostrais (i.e., gravações de 1min), seguindo Kindt e Coe (2015). Como não tínhamos dados de abundância e estávamos interessados em verificar quais espécies poderiam ou não sofrer diferenças na proporção de presença, optamos por não utilizar a distância ecológica, que resume a similaridade em um único valor (Kindt & Coe, 2015).

A comparação da composição considerando todas as espécies apresentou diferença significativa apenas no P2 no período pré-experimento, com mais presenças no tratamento experimental. Esse resultado poderia ser um empecilho por indicar que a composição de espécies nos tratamentos já é diferente antes da realização do experimento. Porém, essa diferença não ocorreu durante o experimento. Nossos resultados mostram que não há diferença significativa entre os tratamentos nos dois pontos, novamente em desacordo com o esperado.

Estudos em comunidades naturais também não encontraram mudanças aparentes na composição em comunidades invadidas por *L. catesbeianus*. (Both & Melo, 2015; Escoriza & Ruhí, 2016; Ferrante *et al.*, 2020). Apesar de conclusões semelhantes, não podemos deixar de salientar as diferentes abordagens utilizadas para alcançar resultados semelhantes: ao estudar comunidades já invadidas, as pesquisas citadas acima estão sujeitas a interações interespecíficas diversas. Além da competição acústica, existem outros fatores, como a competição por recursos alimentares, que podem alterar a ocupação de habitat das espécies nativas (Cunha & Delariva, 2009; Kraus, 2009; Ferrante *et al.*, 2020). Reforçamos a ideia de que as interações que geram respostas em nível de comunidades são complexas e assimétricas, afetando diferentes espécies de maneiras desiguais e dependem dos atributos do habitat e das espécies nativas (Gobel *et al.*, 2019).

Os resultados das comparações por espécie permitiram compreender os comportamentos específicos que revelam diferenças entre as populações. Do total de 21 espécies registradas nesse trabalho, apenas para 4 delas podemos sugerir que houve impacto da invasão acústica. Durante o experimento no P1, C.

albopunctata, *E. cesarii*, *L. mystacinus* e *P. cuvieri* foram significativamente menos presentes no tratamento experimental, ressaltando que no período pré-experimento essas espécies não mostraram diferenças significativas. Esses resultados sugerem um efeito negativo na permanência dessas espécies na presença da vocalização de *L. catesbeianus*. Já no P2, tanto *B. albopunctata* quanto *B. faber* foram significativamente menos presentes no tratamento experimental, sendo que esse padrão já havia sido encontrado no pré-experimento. Portanto, seria equivocado concluir que um efeito da rã-touro nessas espécies, já que a diferença já estava presente mesmo antes do experimento de simulação da invasão. Esse resultado é um exemplo que representa a importância da análise do período pré-experimento, trazendo maior confiabilidade para interpretação dos nossos dados. Não encontramos justificativas que expliquem o porquê dessas espécies terem respondido ao experimento dessa maneira. Espécies nativas tem diferentes capacidades de responder a novos sons, mas algumas não possuem tal aptidão (Lengagne, 2008; Medeiros *et al.*, 2017) e, provavelmente, haja mecanismos desconhecidos por nós que estejam agindo e que necessitam de outras abordagens para serem descobertos.

Both *et al.* (2014) encontraram que descritores de escala local de corpos d'água são melhores preditores da composição de espécies nativas do que a presença da rã-touro. Both e Melo (2015) mostraram que a invasão da rã-touro não mostrou diferença na composição de espécies em um estudo que incluiu 57 poças, argumentando que o fato de não existir espécies congêneres gera uma baixa resistência biótica que permite a coexistência da invasora com as espécies nativas. Ao pensar na composição das comunidades estudadas neste trabalho, podemos sugerir que a falta de familiaridade das espécies com a vocalização simulada não esbarrou na resistência biótica da comunidade nativa. Ainda, não podemos descartar a possibilidade de que nosso experimento não foi suficiente em termos de duração, quantidade de rãs-touro simuladas e dinâmica de reprodução do *playback*, para gerar uma resposta mais forte nas comunidades. O alto número de indivíduos de espécies diferentes vocalizando de forma simultânea no mesmo espaço acústico pode ter ocasionado um efeito contrário: ao invés da rã-touro

mascarar os sinais acústicos dos indivíduos, o alto grau de vocalização e saturação do espaço acústico mascarou a vocalização invasora. Espécies com cantos na faixa de frequência entre 300 – 2000Hz, como *P. cuvieri*, *P. marmoratus*, *L. fuscus* e *S. fuscovarius/ similis* foram muito frequentes nas nossas gravações, formando coros de vocalização contínua e com alta intensidade sonora.

PARÂMETROS ACÚSTICOS

Nossos resultados mostraram que duas das quatro espécies testadas alteraram algum parâmetro acústico durante a realização do experimento. *D. jimi* e *L. labyrinthicus/luctator* aumentaram a frequência dominante durante a simulação da invasão acústica da rã touro. Apenas *L. labyrinthicus/luctator* alterou a duração do canto e o número de cantos por minuto, diminuindo ambos os parâmetros. Nós esperávamos que tanto *L. labyrinthicus/luctator* quanto *P. cuvieri* apresentassem respostas à invasão, já que ambas possuem sobreposição espectral com a vocalização da rã-touro, apesar de *L. labyrinthicus/luctator* ser a única espécie analisada com sobreposição na frequência dominante. Para *D. jimi* e *S. fuscomarginatus*, nossa hipótese era que não haveria alteração nos parâmetros acústicos, porque nenhuma delas apresenta sobreposição espectral.

O reconhecimento de sinal está diretamente relacionado tanto ao reconhecimento específico quanto à seleção sexual por parte das fêmeas (Ryan & Rand, 1993). A estimulação sensorial na fêmea ocorre a partir de faixas específicas dos parâmetros acústicos, principalmente de frequência e temporais finos (e.g. taxa de repetição de pulso). Dessa forma, a fêmea é capaz de reconhecer machos co-específicos. Parâmetros espectrais tendem a ser estáticos e apresentam uma forte correlação com tamanho corpóreo dos machos na grande maioria dos anuros, sugerindo uma dependência morfológica, na qual indivíduos maiores vocalizam em frequências menores (Gerhardt & Huber, 2002; Gingras *et al.*, 2013). De acordo com a hipótese da sinalização honesta, as características espectrais apontam informações confiáveis a respeito da qualidade do macho,

levando em consideração seu tamanho e força. A sinalização honesta pode influenciar no reconhecimento e escolha de parceiros por parte das fêmeas (Davies & Halliday, 1978; Wells, 2007). Os parâmetros temporais, no geral, são conhecidos por serem dinâmicos, sendo raramente relacionados com tamanho corporal (Kohler *et al.*, 2017). Parâmetros como intensidade da vocalização, taxa, duração e complexidade de cantos estão fortemente sujeitos à seleção sexual. As fêmeas têm preferência por aqueles machos que investem mais esforço na vocalização. Durante os coros, é visto adaptações intraespecíficas com o intuito de redução da interferência acústica, principalmente no ajuste da taxa de canto para evitar sobreposição, favorecendo o reconhecimento, distinção e detecção dos cantos (Wells, 2007).

A pressão seletiva para a comunicação em canais específicos para cada espécie atua na evolução do comportamento acústico (Krause, 1993; Sueur & Farina, 2015; Mullet *et al.*, 2017). Há evidências robustas que indicam a presença de uma partição de nicho acústico, responsável por diminuir o mascaramento de sinais e favorecendo a existência de vocalizações em frequências ótimas (Krause, 1993; Stone, 2000; Farina & James, 2016; Hopkins *et al.*, 2022). Esse mecanismo evolutivo é conhecido como hipótese do nicho acústico (ANH) e propõe a ideia de partição do espectro de frequência disponível para reduzir a sobreposição das vocalizações e, como consequência, a competição interespecífica por frequências (Krause, 1993; Pijanowski *et al.*, 2011; Farina & James, 2016). Essa hipótese prediz que a exclusão competitiva pode resultar em um ajuste dos sinais sonoros emitidos pelas espécies de uma dada comunidade, evoluindo na direção de maximizar a comunicação efetiva intraespecífica, através de mudanças no tempo, frequência e período de vocalização, a fim de minimizar a interferência dos sons produzidos por outras fontes sonoras (e.g. outras espécies, sons abióticos, sons produzidos por humanos; (Pijanowski *et al.*, 2011).

Em um contexto de alterações sonoras no *soundscape*, seja ela de origem biológica, antrópica ou abiótica e de vocalização em coros, os anuros apresentam plasticidade acústica, sendo capazes de alterar os parâmetros de seus cantos (Hopkins *et al.*, 2022). Diversos trabalhos (Sun & Narins, 2005; Both & Grant,

2012; Bleach *et al.*, 2015; Röhr *et al.*, 2016; Tennessen *et al.*, 2016; Medeiros *et al.*, 2017; Foratto *et al.*, 2021) mostraram a capacidade de espécies de responder à novas fontes sonoras. Essa possibilidade permite evitar o mascaramento acústico que pode ser provocado em decorrência do novo som (Hopkins *et al.*, 2022). Por outro lado, tende a dificultar o reconhecimento espécie-específico por parte das fêmeas, resultado na diminuição do *fitness* ao reduzir a probabilidade de acasalamento (Hopkins *et al.*, 2022). Portanto, ao entrar em contato com uma vocalização invasora, as espécies de anuros apresentam capacidade acústica para lidar de alguma maneira com esse evento, cada qual do seu modo e sendo limitada por características morfológicas. Porém, há um *trade-off* entre alterar sua própria vocalização para evitar o mascaramento de sinal e manter as características necessárias para o sucesso reprodutivo.

BIOACÚSTICA EXPERIMENTAL

A bioacústica é uma área de estudo muito utilizada em pesquisas com viés conservacionista. Há diversos trabalhos que indicam que ruídos de origem antropogênica impactam negativamente a comunidade acústica de ambientes naturais. Bee e Swanson (2007), Cunnington e Fahring (2010), Halfwerk *et al.* (2011), Herrera-Montes e Aide (2011), Vargas-Salinas *et al.* (2014), Caorsi *et al.* (2017), Troïanowski *et al.* (2018) mostraram os efeitos do ruído de tráfego em aves e anuros. Caorsi *et al.* (2019) avaliaram o efeito de vibrações no solo de tráfego e turbinas eólicas na atividade acústica de populações de sapos e concluíram que houve um claro efeito negativo das vibrações de origem antropogênica em parâmetros acústicos relevantes no sucesso reprodutivo. Deichmann *et al.* (2016) utilizaram monitoramento acústico passivo em uma floresta para investigar como a exploração de gás natural estava afetando a composição da paisagem sonora, a riqueza de frequências acústicas, a riqueza de espécies e atividade acústica de anuros. Roe *et al.* (2018) utilizaram monitoramento acústico em tempo real para construir um sistema de alerta para

captar a vocalização *Rhinella marina*, uma espécie invasora na Austrália, auxiliando no controle populacional.

Na literatura, encontramos diversas abordagens experimentais para desenvolver pesquisas com bioacústica da invasão e conservação. Dentre os experimentos de curto prazo, há trabalhos que utilizam *playbacks* da vocalização da espécie invasora de interesse (Both & Grant, 2012; Bleach *et al.*, 2015; Tennessen *et al.*, 2016; Medeiros *et al.*, 2017; Hopkins *et al.*, 2021). Uma das vantagens desse tipo de metodologia é que ela permite verificar possíveis impactos imediatos da espécie invasora em espécies nativas específicas. Porém, os efeitos são individuais, e não é possível acessar efeitos no nível de comunidade e nem a longo prazo, o que limita a utilidade desses experimentos para entender as consequências das invasões acústicas na natureza. Já os experimentos de monitoramento acústico de longo prazo permitiram o acúmulo de enormes bancos de dados acústicos, utilizando gravadores de monitoramento acústico passivo, permitindo a coleta de dados por longos períodos (e.g. meses, anos) de forma não invasiva e diminuindo os custos das pesquisas (Laiolo, 2010; Blumstein *et al.*, 2011; Llusia *et al.*, 2013; Gibb *et al.*, 2019; Sugai & Llusia, 2019; Sugai *et al.*, 2019; Szymanski *et al.*, 2021). Desde então, metodologias associadas ao monitoramento acústico passivo têm sido desenvolvidas. Por exemplo, o trabalho de Roe *et al.* (2018) citado acima utilizou microcomputadores associados a estações de energia solar para monitoramento acústico passivo em tempo real. Em nosso trabalho experimental, reunimos ideias encontradas em diversos trabalhos para entender possíveis efeitos de uma invasão de rã-touro de longo prazo. Utilizamos *playbacks*, microcomputadores, caixas de som, energia solar e gravadores automáticos passivos. Até onde sabemos, não há trabalhos publicados que fizeram uso desses recursos em conjunto para pesquisar efeitos de longo prazo de invasão acústica em comunidades nativas.

A grande quantidade de dados gerados com o monitoramento acústico passivo é um desafio tanto para o armazenamento quanto para análises (Hampton *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013; Gibb *et al.*, 2018; Kvsn *et al.*, 2020; Symes *et al.*, 2022). Com o surgimento de metodologias de análise semiautomática e

automática de áudios, foi possível extrair cada vez mais informações dos dados acústicos. *Softwares* de reconhecimento de vocalizações como, *Kaleidoscope* (Wildlife Acoustics, 2020) e ARBIMON (Aide *et al.*, 2013), auxiliam na identificação e localização de cantos de interesse (Bravo *et al.*, 2017; Kohler *et al.*, 2017; Sugai *et al.*, 2019; Kvsn *et al.*, 2020; LeBien *et al.*, 2020). Os índices acústicos também são amplamente utilizados nas análises de áudios de monitoramento acústico passivo, possibilitando que uma quantidade altíssima de áudios seja resumida rapidamente em um único valor (Sueur *et al.*, 2008; Pieretti *et al.*, 2011; Depraetere *et al.*, 2012; Sueur *et al.*, 2014; Towsey *et al.*, 2014; Ksvn *et al.*, 2020). Apesar de atrativos, devem ser utilizados com cautela e interpretados de forma cuidadosa (Alcocer *et al.*, 2022). Como todo índice, há perda de informação biológica ao resumir toda comunidade acústica a um único valor, sendo ideal ter um conhecimento básico da ocorrência de espécies para interpretação correta dos valores. Sua utilidade irá depender da pergunta biológica a ser respondida (Machado *et al.*, 2017). Ainda, a escolha de quais e quantos índices utilizar não é óbvia e deve-se compreender profundamente tanto as teorias e pressupostos por trás de cada um quanto as limitações (Sueur *et al.*, 2014; Fuller *et al.*, 2015; Sankupellay *et al.*, 2015; Fairbass *et al.*, 2017; Buxton *et al.*, 2018; Mcloughlin *et al.*, 2019). Para nosso trabalho, optamos por não utilizar os índices acústicos para evitar interpretações equivocada dos dados, uma vez que a presença da vocalização da rã-touro seria uma nova fonte de ruído que poderia afetar os valores dos índices, porém não saberíamos identificar se a possível variação foi devido a alterações na riqueza, composição e parâmetros acústicos das espécies ou a simples presença de uma nova fonte de ruído e em que magnitude cada variável afetou tais valores.

Ressaltamos a relevância da metodologia desenvolvida durante a realização dos nossos experimentos, que permitiu a coleta de dados em áreas ainda não impactadas, de forma automatizada e simultânea em vários pontos. É evidente a necessidade de aperfeiçoamento dos equipamentos, para tornar esse tipo de experimento cada vez mais viável e acessível. Por exemplo, tornar as estações de simulação de invasão acústica menores para facilitar o manejo e o

impacto no campo, além de evitar ruídos provenientes dos equipamentos. Pesquisas de longo prazo, simulando invasões por mais de uma estação reprodutiva com conhecimento prévio sólido sobre a comunidade acústica local, associado a dados ambientais e de fotografias aéreas da vegetação tende a aumentar a confiabilidade dos resultados. Outras abordagens podem ser utilizadas com essa metodologia, como alteração da escala de estudo, verificando se simulações afetam da mesma forma locais muito próximos aos indivíduos invasores ou se há uma resposta ao longo dos brejos, trabalhar em poças de tamanhos e diversidades variadas. Utilizar a passagem de dados dos gravadores por meio da tecnologia de nuvem é uma inovação que também facilita a o desenvolvimento dos experimentos. Dessa forma, os estudos sobre impactos de invasões acústicas poderão ser mais complexos e prever respostas, dando subsídios práticos para tomadas de decisões em conservação da biodiversidade

Por fim, encontramos respostas distintas das comunidades e das espécies nos nossos experimentos, evidenciando a complexidade das interações acústicas e das possibilidades de respostas das espécies. A ausência de um padrão na resposta das comunidades e de determinadas espécies reforçam a necessidade de continuar estudos na área de invasão acústica de fontes diversas, para elucidar possíveis impactos na fauna nativa que utiliza a vocalização para reprodução.

CONCLUSÃO

Nosso trabalho mostrou que a simulação da invasão acústica da rã-touro não alterou a riqueza do tratamento experimental em relação ao controle no período durante o experimento. Porém, diminuiu o número de presenças em áudios de *Chiasmocleis albopunctata*, *Elachistocleis cesarii*, *Leptodactylus mystacinus* e *Physalaemus cuvieri* e afetou parâmetros acústicos de *Dendropsophus jimi*, que aumentou a frequência dominante e *Leptodactylus labyrinthicus/luctator* que também aumentou a frequência dominante e, além disso, diminuiu a duração do canto e o número de cantos por minuto.

Uma possível invasão real de rã-touro nos pontos estudados tem potencial para alterar a composição das comunidades nativas afetando algumas espécies através de mecanismos não conhecidos e de gerar impacto na comunicação acústica em espécies de anuros.

A abordagem experimental utilizada, com a automatização completa da reprodução dos *playbacks*, permite a realização de estudos para avaliar impactos de longo prazo a nível de comunidade, evitando outras variáveis que possam gerar respostas acústicas e possibilitando simular uma invasão real para tomada de decisões para conservação da biodiversidade. Nosso trabalho sustenta a complexidade das respostas da invasão do nicho acústico e estende esse achado do nível de indivíduos, como já foi visto, para nível de comunidade.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acevedo, M. A., Corrada-Bravo, C. J., Corrada-Bravo, H., Villanueva-Rivera, L. J., Aide, T. M. (2009). Automated classification of bird and amphibian calls using machine learning: A comparison of methods. *Ecological Informatics*, 4(4), 206-214.
- Aide, T. M., Corrada-Bravo, C., Campos-Cerqueira, M., Milan, C., Vega, G., & Alvarez, R. (2013). Real-time bioacoustics monitoring and automated species identification. *PeerJ*, 1, e103.
- Alcocer, I., Lima, H., Sugai, L. S. M., & Llusia, D. (2022). Acoustic indices as proxies for biodiversity: a meta-analysis. *Biological Reviews*.
- Araujo, C. D. O., Corrêa, D. T., & Santos, S. M. D. A. (2013). Anuros da Estação Ecológica de Santa Bárbara, um remanescente de formações abertas de Cerrado no estado de São Paulo. *Biota Neotropica*, 13, 230-240.
- Audacity Team. (2018). Audacity (R): free audio editor and recorder.
- Bee, M. A. (2004). Within-individual variation in bullfrog vocalizations: Implications for a vocally mediated social recognition system. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 116(6), 3770-3781.
- Bee, M. A. & Swanson, E. M. (2007) Auditory masking of anuran advertisement calls by road traffic noise. *Animal Behaviour*, 74, 1765–1776.
- Bee, M. A., & Swanson, E. M. (2007). Auditory masking of anuran advertisement calls by road traffic noise. *Animal Behaviour*, 74(6), 1765-1776.

- Bee, M. A. (2008) Finding a mate at a cocktail party: Spatial release from masking improves acoustic mate recognition in grey treefrogs. *Animal Behaviour*, 75, 1781–1791.
- Bioacoustics Research Program (2014) Raven Pro: interactive sound analysis software (Version 1.5) [Computer software]. Ithaca, NY: The Cornell Lab of Ornithology. Available from <http://www.birds.cornell.edu/raven>
- Blackburn, T. M., Pyšek, P., Bacher, S., Carlton, J. T., Duncan, R. P., Jarošík, V., Wilson, J. R. U. & Richardson, D. M. (2011). A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution*, 26, 333-339.
- Bleach, I. T., Beckmann, C., Both, C., Brown, G. P., & Shine, R. (2015). Noisy neighbours at the frog pond: effects of invasive cane toads on the calling behaviour of native Australian frogs. *Behavioral ecology and sociobiology*, 69(4), 675-683.
- Blumstein, D. T., Mennill, D. J., Clemins, P., Girod, L., Yao, K., Patricelli, G., ... & Kirschel, A. N. (2011). Acoustic monitoring in terrestrial environments using microphone arrays: applications, technological considerations and prospectus. *Journal of Applied Ecology*, 48(3), 758-767.
- Both, C., Lingnau, R., Santos-Jr, A., Madalozzo, B., Lima, L. P., & Grant, T. (2011). Widespread occurrence of the american bullfrog, *Lithobates catesbeianus* (Shaw, 1802)(Anura: Ranidae), in Brazil. *South American Journal of Herpetology*, 6(2), 127-134.
- Both, C., & Grant, T. (2012). Biological invasions and the acoustic niche: the effect of bullfrog calls on the acoustic signals of white-banded tree frogs. *Biology Letters*, 8(5), 714-716.

- Both, C., Madalozzo, B., Lingnau, R., & Grant, T. (2014). Amphibian richness patterns in Atlantic Forest areas invaded by American bullfrogs. *Austral Ecology*, 39(7), 864-874.
- Both, C., & Melo, A. S. (2015). Diversity of anuran communities facing bullfrog invasion in Atlantic Forest ponds. *Biological Invasions*, 17(4), 1137-1147.
- Bradley, B. A., Laginhas, B. B., Whitlock, R., Allen, J. M., Bates, A. E., Bernatchez, G., ... & Sorte, C. J. (2019). Disentangling the abundance–impact relationship for invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(20), 9919-9924.
- Bravo, C. J. C., Berríos, R. Á., & Aide, T. M. (2017). Species-specific audio detection: a comparison of three template-based detection algorithms using random forests. *PeerJ Computer Science*, 3, e113.
- Brumm, H., & Todt, D. (2002). Noise-dependent song amplitude regulation in a territorial songbird. *Animal Behaviour*, 63(5), 891-897.
- Brumm, H., & Slabbekoorn, H. (2005). Acoustic communication in noise. *Advances in the Study of Behavior*, 35, 151-209.
- Bury, R. B. & Whelan, J. A. (1984) *Ecology and management of the bullfrog*. U.S. Department of the Interior, Fish and Wildlife Service, Washington.
- Buxton, R. T., McKenna, M. F., Clapp, M., Meyer, E., Stabenau, E., Angeloni, L. M., ... & Wittemyer, G. (2018). Efficacy of extracting indices from large-scale acoustic recordings to monitor biodiversity. *Conservation Biology*, 32(5), 1174-1184.

- Caorsi, V., Guerra, V., Furtado, R., Llusia, D., Miron, L. R., Borges-Martins, M., ... & Márquez, R. (2019). Anthropogenic substrate-borne vibrations impact anuran calling. *Scientific reports*, 9(1), 1-10.
- Caorsi, V. Z., Both, C., Cechin, S., Antunes, R., & Borges-Martins, M. (2017). Effects of traffic noise on the calling behavior of two Neotropical hylid frogs. *PLoS One*, 12(8), e0183342.
- Capranica, R. R. (1965). *The Evoked Vocal Response of the Bullfrog*. MIT, Cambridge.
- Capranica, R. R. (1968). The vocal repertoire of the bullfrog (*Rana catesbeiana*). *Behaviour*, 31(3), 302-324.
- Clavero, M. & García-Berthou, E. (2005) Invasive species are a leading cause of animal extinctions. *Trends in Ecology & Evolution*, 20, 110.
- Crooks, J. A. (2002c). The process of biological invasion: The arrival, establishment, and integration of exotic species into ecosystems. *Bulletin of the Japan Ecological Society, Kanto Division*, 50, 15-22.
- Cunha, E. R., & Delariva, R. L. (2009). INTRODUÇÃO DA RÃ-TOURO, *Lithobates catesbeianus* (SHAW, 1802): UMA REVISÃO. *SaBios-Revista de Saúde e Biologia*, 4(2).
- Cunnington, G. M., & Fahrig, L. (2010). Plasticity in the vocalizations of anurans in response to traffic noise. *Acta Oecologica*, 36(5), 463-470.
- Daszak, P., Strieby, A., Cunningham, A.A., Longcore, J.E., Brown, C.C. & Porter, D. (2004) Experimental evidence that the bullfrog (*Rana catesbeiana*) is a potential carrier of chytridiomycosis, an emerging fungal disease of amphibians. *Herpetological Journal*, 14, 201–207.

- Davies, N. B., & Halliday, T. R. (1979). Competitive mate searching in male common toads, *Bufo bufo*. *Animal Behaviour*, 27, 1253-1267.
- Deichmann, J. L., Hernández-Serna, A., Campos-Cerqueira, M., & Aide, T. M. (2017). Soundscape analysis and acoustic monitoring document impacts of natural gas exploration on biodiversity in a tropical forest. *Ecological Indicators*, 74, 39-48.
- Depraetere, M., Pavoine, S., Jiguet, F., Gasc, A., Duvail, S., & Sueur, J. (2012). Monitoring animal diversity using acoustic indices: implementation in a temperate woodland. *Ecological Indicators*, 13(1), 46-54.
- Didham, R. K., Tylianakis, J. M., Gemmill, N. J., Rand, T. A., & Ewers, R. M. (2007). Interactive effects of habitat modification and species invasion on native species decline. *Trends in ecology & evolution*, 22(9), 489-496.
- Digby, A., Towsey, M., Bell, B. D., & Teal, P. D. (2013). A practical comparison of manual and autonomous methods for acoustic monitoring. *Methods in Ecology and Evolution*, 4(7), 675-683.
- Dubois, A., & Martens, J. (1984). A case of possible vocal convergence between frogs and a bird in Himalayan torrents. *Journal für Ornithologie*, 125(4), 455-463.
- Durham, L., & Bennett, G. (1963). Age, Growth, and Homing in the Bullfrog. *The Journal of Wildlife Management*, 27(1), 107-123.
- Elton C. (1958) *The ecology of Invasions by Animals and Plants*, 2000th edn. The University of Chicago Press, Chicago, Londres
- Escoriza, D., & Ruhí, A. (2016). Functional distance to recipient communities may favour invasiveness: insights from two invasive frogs. *Diversity and Distributions*, 22(5), 519-533.

- Fairbrass, A. J., Rennert, P., Williams, C., Titheridge, H., & Jones, K. E. (2017). Biases of acoustic indices measuring biodiversity in urban areas. *Ecological Indicators*, 83, 169-1
- Farina, A., Pieretti, N., & Morganti, N. (2013). Acoustic patterns of an invasive species: the Red-billed Leiothrix (*Leiothrix lutea* Scopoli 1786) in a Mediterranean shrubland. *Bioacoustics*, 22(3), 175-194.
- Farina, A., & James, P. (2016). The acoustic communities: Definition, description and ecological role. *Biosystems*, 147, 11-20.
- Ferrante, L., Baccaro, F. B., & Kaefer, I. L. (2020). Aliens in the backyard: Did the American bullfrog conquer the habitat of native frogs in the semi-deciduous Atlantic Forest?. *Herpetological Journal*, 30(2).
- Fiorillo, B.F. & Martins, M. (2021) Herpetofauna da Estação Ecológica de Santa Bárbara: Guia ilustrado Herpetofauna of the Santa Bárbara Ecological Station: Illustrated guide – São Paulo: Herp Trips, 2021. 120 p.
- Foratto, R. M., Llusia, D., Toledo, L. F., & Forti, L. R. (2021). Treefrogs adjust their acoustic signals in response to harmonics structure of intruder calls. *Behavioral Ecology*, 32(3), 416-427.
- Fuller, S., Axel, A. C., Tucker, D., & Gage, S. H. (2015). Connecting soundscape to landscape: Which acoustic index best describes landscape configuration?. *Ecological indicators*, 58, 207-215.
- Gerhardt, H. C., and F. Huber. 2002. *Acoustic communication in insects and frogs: Common problems and diverse solutions*. Chicago: University of Chicago Press.

- Gibb, R., Browning, E., Glover-Kapfer, P., & Jones, K. E. (2019). Emerging opportunities and challenges for passive acoustics in ecological assessment and monitoring. *Methods in Ecology and Evolution*, 10(2), 169-185.
- Gingras, B., Boeckle, M., Herbst, C. T., & Fitch, W. T. (2013). Call acoustics reflect body size across four clades of anurans. *Journal of Zoology*, 289(2), 143-150.
- Goutte, S., Dubois, A., & Legendre, F. (2013). The importance of ambient sound level to characterise anuran habitat. *Plos one*, 8(10), e78020.
- Hair, J. F., Black, W. C., Babin, B. J., Anderson, R. E., & Tatham, R. L. (2009). *Análise multivariada de dados*. Bookman editora.
- Halfwerk, W., Holleman, L. J., Lessells, C. K. M., & Slabbekoorn, H. (2011). Negative impact of traffic noise on avian reproductive success. *Journal of applied Ecology*, 48(1), 210-219.
- Hampton, S. E., Strasser, C. A., Tewksbury, J. J., Gram, W. K., Budden, A. E., Batcheller, A. L., ... & Porter, J. H. (2013). Big data and the future of ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11(3), 156-162.
- Heger, T., Saul, W. C., & Trepl, L. (2013). What biological invasions 'are' is a matter of perspective. *Journal for Nature Conservation*, 21(2), 93-96.
- Hellmann, J.J., Byers, J.E., Bierwagen, B.G. & Dukes, J.S. (2008) Five potential consequences of climate change for invasive species. *Conservation Biology*, 22,534–43.
- Herrera-Montes, M. I., & Aide, T. M. (2011). Impacts of traffic noise on anuran and bird communities. *Urban Ecosystems*, 14(3), 415-427.

- Holt, M. M., Noren, D. P., & Emmons, C. K. (2011). Effects of noise levels and call types on the source levels of killer whale calls. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 130(5), 3100-3106.
- Hopkins, J. M., Edwards, W., Laguna, J. M., & Schwarzkopf, L. (2021). An endangered bird calls less when invasive birds are calling. *Journal of Avian Biology*, 52(1).
- Hopkins, J. M., Edwards, W., & Schwarzkopf, L. (2022). Invading the soundscape: exploring the effects of invasive species' calls on acoustic signals of native wildlife. *Biological Invasions*, 1-13.
- IUCN. (2011) The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2011.2
- Jorgewich-Cohen, G., Toledo, L. F., & Grant, T. (2022). Genetic structure of American bullfrog populations in Brazil. *Scientific Reports*, 12(1), 1-10.
- Kaiser, K. & Hammers, J. L. (2009) The effect of anthropogenic noise on male advertisement call rate in the neotropical treefrog, *Dendropsophus triangulum*. *Behaviour*, 146, 1053–1069.
- Kaiser, K., Scofield, D. G., Alloush, M., Jones, R. M., Marczak, S., Martineau, K. & Oliva, M. A. (2011) When sounds collide: the effect of anthropogenic noise on a breeding assemblage of frogs in Belize, Central America. *Behaviour*, 148, 215–232.
- Kats, L.B. & Ferrer, R.P. (2003) Alien predators and amphibian declines: review of two decades of science and the transition to conservation. *Diversity and Distributions*, 9, 99–110.

- Kindt, R., & Coe, R. (2005). *Tree diversity analysis: a manual and software for common statistical methods for ecological and biodiversity studies*. World Agroforestry Centre.
- Koehler, J., Jansen, M., Rodriguez, A., Kok, P. J., Toledo, L. F., Emmrich, M., ... & Vences, M. (2017). The use of bioacoustics in anuran taxonomy: theory, terminology, methods and recommendations for best practice. *Zootaxa*, 4251(1), 1-124.
- Korschgen, L. J. & Moyle, D. L. (1955). Food habits of the bullfrog in central Missouri farm ponds. *American Midland Naturalist*, 54(2), 332-341.
- Kortz, A. R., & Magurran, A. E. (2019). Increases in local richness (α -diversity) following invasion are offset by biotic homogenization in a biodiversity hotspot. *Biology letters*, 15(5), 20190133.
- Kraus, F. (2008). *Alien reptiles and amphibians: a scientific compendium and analysis*. Springer, Netherlands.
- Krause, B. L. (1993). The niche hypothesis: a virtual symphony of animal sounds, the origins of musical expression and the health of habitats. *The Soundscape Newsletter*, 6, 6-10.
- Kvsn, R. R., Montgomery, J., Garg, S., & Charleston, M. (2020). Bioacoustics data analysis—A taxonomy, survey and open challenges. *IEEE Access*, 8, 57684-57708.
- Laiolo, P. (2010). The emerging significance of bioacoustics in animal species conservation. *Biological conservation*, 143(7), 1635-1645.
- LeBien, J., Zhong, M., Campos-Cerqueira, M., Velez, J. P., Dodhia, R., Ferres, J. L., & Aide, T. M. (2020). A pipeline for identification of bird and frog species in tropical

- soundscape recordings using a convolutional neural network. *Ecological Informatics*, 59, 101113.
- Lengagne, T. (2008). Traffic noise affects communication behaviour in a breeding anuran, *Hyla arborea*. *Biological conservation*, 141(8), 2023-2031.
- Li Y., Ke Z., Wang Y. & Blackburn T. M. (2011) Frog community responses to recent American bullfrog invasions. *Can. J. Zool.* 57, 83–92
- Lima, S. L. & Agostinho, C. A. (1988). *A criação de rãs*. Editora Globo, Rio de Janeiro.
- Llusia, D., Gómez, M., Penna, M., & Márquez, R. (2013). Call transmission efficiency in native and invasive anurans: competing hypotheses of divergence in acoustic signals. *PloS one*, 8(10), e77312.
- Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S. & De Poorter, M. (2000) 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the Global Invasive Species Database. *Aliens*, 12, 1–12.
- Machado, R. B., Aguiar, L., & Jones, G. (2017). Do acoustic indices reflect the characteristics of bird communities in the savannas of Central Brazil?. *Landscape and Urban Planning*, 162, 36-43.
- Mack, R. N., Simberloff, D., Mark Lonsdale, W., Evans, H., Clout, M., & Bazzaz, F. A. (2000). Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications*, 10(3), 689-710.
- Maffei, F., Ubaid, F. K., & Jim, J. (2011). Anfíbios: Fazenda Rio Claro, Lençóis Paulista, SP, Brasil. *Bauru: Canal*, 6, 128.

- Mcloughlin, M. P., Stewart, R., & McElligott, A. G. (2019). Automated bioacoustics: methods in ecology and conservation and their potential for animal welfare monitoring. *Journal of the Royal Society Interface*, 16(155), 20190225.
- Medeiros, C. I., Both, C., Grant, T., & Hartz, S. M. (2017). Invasion of the acoustic niche: variable responses by native species to invasive American bullfrog calls. *Biological Invasions*, 19(2), 675-690.
- Megela-Simmons, A. (1984). Behavioral vocal response thresholds to mating calls in the bullfrog, *Rana anacatesbeiana*. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 76(3), 676-681.
- Melo, A. C. G., & Durigan, G. (2011). Estação Ecológica de Santa Bárbara: plano de manejo. *Instituto Florestal: São Paulo, Brazil*.
- Millenium Environmental Assessment. (2005) *Ecosystems and Human Well-being: Biodiversity Synthesis*. World Resources Institute, Washington, DC.
- Mollot, G., Pantel, J. H., & Romanuk, T. N. (2017). The effects of invasive species on the decline in species richness: a global meta-analysis. In *Advances in ecological research* (Vol. 56, pp. 61-83). Academic Press.
- Mullet, T. C., Farina, A., & Gage, S. H. (2017). The acoustic habitat hypothesis: An ecoacoustics perspective on species habitat selection. *Biosemiotics*, 10(3), 319-336.
- Oksanen, J. (2013). Vegan: ecological diversity. *R project*, 368, 1-11.
- Parris, K. M., Velik-Lord, M. & North, J. M. A. (2009) Frogs call at a higher pitch in traffic noise. *Ecology and Society*, 14, 25.

- Penna, M., Pottstock, H. & Velasquez, N. (2005) Effect of natural and synthetic noise on evoked vocal responses in a frog of the temperate austral forest. *Animal Behaviour*, 70, 639–651.
- Pieretti, N., Farina, A., & Morri, D. (2011). A new methodology to infer the singing activity of an avian community: The Acoustic Complexity Index (ACI). *Ecological Indicators*, 11(3), 868-873.
- Pieretti, N., Duarte, M. H. L., Sousa-Lima, R. S., Rodrigues, M., Young, R. J., & Farina, A. (2015). Determining temporal sampling schemes for passive acoustic studies in different tropical ecosystems. *Tropical Conservation Science*, 8(1), 215-234.
- Pijanowski, B. C., Villanueva-Rivera, L. J., Dumyahn, S. L., Farina, A., Krause, B. L., Napoletano, B. M., ... & Pieretti, N. (2011). Soundscape ecology: the science of sound in the landscape. *BioScience*, 61(3), 203-216.
- Pimentel, D., McNair, S., Janecka, J., Wightman, J., Simmonds, C., O'Connell, C., Wong, E., Russel, L., Zern, J., Aquino, T. & Tsomondo, T. (2000). Economic and environmental threats of alien plant, animal, and microbe invasions. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 84, 1-20.
- Pyšek, P. & Richardson, D.M. (2010) Invasive species, environmental change and management, and health. *Annual Review of Environment and Resources*, 35, 25–55.
- Rabin, L. A., McCowan, B., Hooper, S. L., & Owings, D. H. (2003). Anthropogenic noise and its effect on animal communication: an interface between comparative psychology and conservation biology. *International Journal of Comparative Psychology*, 16(2), 172-192
- Raney, E. C., & Ingram, W. M. (1941). Growth of tagged frogs (*Rana catesbeiana* Shaw and *Rana clamitans* Daudin) under natural conditions. *The American Midland Naturalist*, 26(1), 201-206.

- Roe, P., Ferroudj, M., Towsey, M., & Schwarzkopf, L. (2018, October). Catching toad calls in the cloud: commodity edge computing for flexible analysis of big sound data. In *2018 IEEE 14th International Conference on e-Science (e-Science)* (pp. 67-74). IEEE.
- Röhr, D. L., Paterno, G. B., Camurugi, F., Juncá, F. A., & Garda, A. A. (2016). Background noise as a selective pressure: stream-breeding anurans call at higher frequencies. *Organisms Diversity & Evolution*, *16*(1), 269-273.
- Ryan, M. J., & Rand, A. S. (1993). Species recognition and sexual selection as a unitary problem in animal communication. *Evolution*, *47*(2), 647-657.
- Sankupellay, M., Towsey, M., Truskinger, A., & Roe, P. (2015, September). Visual fingerprints of the acoustic environment: The use of acoustic indices to characterise natural habitats. In *2015 Big Data Visual Analytics (BDVA)* (pp. 1-8). IEEE.
- Sax, D.F., Stachowicz, J.J., Brown, J.H., Bruno, J.F., Dawson, M.N., Gaines, S.D., Grosberg, R.K., Hastings, A., Holt, R.D., Mayfield, M.M., O'Connor, M.I. & Rice, W.R. (2007) Ecological and evolutionary insights from species invasions. *Trends in Ecology and Evolution*, *22*, 465–71.
- Schloegel, L.M., Ferreira, C.M., James, T.Y., Hipolito, M., Longcore, J.E., Hyatt, A.D., Yabsley, M., Martins, A.M.C.R.P.F., Mazzoni, R., Davies, A.J. & Daszak, P. (2010) The North American bullfrog as a reservoir for the spread of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Brazil. *Animal Conservation*, *13*, 53–61.
- Schwartz, J. J. & Wells, K. D. (1983) An experimental study of acoustic interference between two species of Neotropical treefrogs. *Animal Behaviour*, *31*, 181–190.
- Shigesada, N., & Kawasaki, K. (1997). Biological invasions: theory and practice. *Oxford University Press, UK*.

- Stohlgren, T. J., Jarnevich, C., Chong, G. W., & Evangelista, P. H. (2006). Scale and plant invasions: a theory of biotic acceptance. *Preslia*, 78(4), 405-426.
- Stone, E. (2000). Separating the noise from the noise: a finding in support of the “niche hypothesis,” that birds are influenced by human-induced noise in natural habitats. *Anthrozoös*, 13(4), 225-231.
- Sueur, J., Pavoine, S., Hamerlynck, O., & Duvail, S. (2008). Rapid acoustic survey for biodiversity appraisal. *PloS one*, 3(12), e4065.
- Sueur, J., Farina, A., Gasc, A., Pieretti, N., & Pavoine, S. (2014). Acoustic indices for biodiversity assessment and landscape investigation. *Acta Acustica united with Acustica*, 100(4), 772-781.
- Sueur, J., & Farina, A. (2015). Ecoacoustics: the ecological investigation and interpretation of environmental sound. *Biosemiotics*, 8(3), 493-502.
- Sugai, L. S. M., & Llusia, D. (2019). Bioacoustic time capsules: Using acoustic monitoring to document biodiversity. *Ecological Indicators*, 99, 149-152.
- Sugai, L. S. M., Silva, T. S. F., Ribeiro Jr, J. W., & Llusia, D. (2019). Terrestrial passive acoustic monitoring: review and perspectives. *BioScience*, 69(1), 15-25.
- Sun, J. W. C. & Narins, P. M. (2005) Anthropogenic sounds differentially affect amphibian call rate. *Biological Conservation*, 121, 419–427.
- Symes, L. B., Madhusudhana, S., Martinson, S. J., Kernan, C. E., Hodge, K. B., Salisbury, D. P., ... & ter Hofstede, H. (2022). Estimation of katydid calling activity from soundscape recordings. *Journal of Orthoptera Research*, 31(2), 173-180.
- Szymański, P., Olszowiak, K., Wheeldon, A., Budka, M., & Osiejuk, T. S. (2021). Passive acoustic monitoring gives new insight into year-round duetting behaviour of a tropical songbird. *Ecological Indicators*, 122, 107271.

- Taper, M. L., & Case, T. J. (1992). Coevolution among competitors. *Oxford surveys in evolutionary biology*, 8, 63-63.
- Tennessen, J. B., Parks, S. E., Tennessen, T. P., & Langkilde, T. (2016). Raising a racket: invasive species compete acoustically with native treefrogs. *Animal Behaviour*, 114, 53-61.
- Towsey, M., Wimmer, J., Williamson, I., & Roe, P. (2014). The use of acoustic indices to determine avian species richness in audio-recordings of the environment. *Ecological Informatics*, 21, 110-119.
- Troïanowski, M., Mondy, N., Dumet, A., Arcanjo, C., & Lengagne, T. (2017). Effects of traffic noise on tree frog stress levels, immunity, and color signaling. *Conservation biology*, 31(5), 1132-1140.
- Vargas-Salinas, F., Cunnington, G. M., Amézquita, A., & Fahrig, L. (2014). Does traffic noise alter calling time in frogs and toads? A case study of anurans in Eastern Ontario, Canada. *Urban Ecosystems*, 17(4), 945-953.
- Vermeij, G.J. (1996). An agenda for invasion biology. *Biological Conservation*, 78, 3-9.
- Vizotto, L. D. (1984). Ranicultura. *Ciência e Cultura*, 36, 42-45.
- Waddle, J.H., Thigpen, T.F. & Glorioso, B.M. (2009) Efficacy of automated vocalization recognition software for anuran. *Herpetological Conservation and Biology*, 4, 384–388.
- Wells, K. D. (2007) *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Wong, S., Parada, H. & Narins, P.M. (2009) Heterospecific acoustic interference: effects on calling in the frog *Oophaga pumilio* in Nicaragua. *Biotropica*, 41, 74–80.
- Zhang, J., Huang, K., Cottman-Fields, M., Truskinger, A., Roe, P., Duan, S., ... & Wimmer, J. (2013, December). Managing and analysing big audio data for

environmental monitoring. In *2013 IEEE 16th International Conference on Computational Science and Engineering* (pp. 997-1004). IEEE.

APÊNDICES

APÊNDICE 1. Código em linguagem *Python* utilizado na *Raspberry Pi 3* para reprodução automática dos *playbacks*.

```
#!/bin/bash
AUDIOPATH="/audiofiles/"
SERVICE="omxplayer"
while true; do
    hora=$(date +"%H")
    min=$(date +"%M")
    seg=$(date +"%S")

    if [ $hora -ge 18 ]
    then
        if [ $min -ge 00 ]
        then
            omxplayer -o local ra1.wav
        fi
    fi

    if [ $hora -le 6 ]
    then
        if [ $min -ge 00 ]
        then
            omxplayer -o local ra1.wav
        fi
    fi

    #echo hora
done
```

APÊNDICE 2. Modelos estatísticos gerados para análises de riqueza.

> # GLM Poisson P1 período pré experimento

glm(formula = p1_pre\$riqueza ~ p1_pre\$tratamento, family = poisson(log))

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.86589	-0.57388	0.00334	0.48454	2.08239

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	1.38463	0.04086	33.888	<2e-16 ***
p1_pre\$tratamentoexperimental	0.02799	0.05738	0.488	0.626

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

Null deviance: 303.26 on 299 degrees of freedom

Residual deviance: 303.02 on 298 degrees of freedom

AIC: 1239.9

Number of Fisher Scoring iterations: 4

> exp(coef(glm_p_p1_pre))

(Intercept)	p1_pre\$tratamentoexperimental
3.993333	1.028381

> # GLM Poisson P2 período pré experimento

glm(formula = p2_pre\$riqueza ~ p2_pre\$tratamento, family = poisson(log))

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.93712	-0.66938	-0.09838	0.76632	2.39792

Coefficients:

```
                Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)          1.46171   0.03931  37.180 <2e-16 ***
p2_pre$tratamentoexperimental -0.02663   0.05597  -0.476   0.634
```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

Null deviance: 385.32 on 299 degrees of freedom

Residual deviance: 385.09 on 298 degrees of freedom

AIC: 1324

Number of Fisher Scoring iterations: 5

```
> exp(coef(glm_p_p2_pre))
```

```
(Intercept) p2_pre$tratamentoexperimental
4.3133333          0.9737249
```

> # GLM Poisson P1 período durante experimento

glm(formula = p1_dur\$riqueza ~ p1_dur\$tratamento, family = poisson(log))

Deviance Residuals:

```
    Min     1Q  Median     3Q     Max
-2.53837 -1.39669 -0.06275  0.98395  3.09504
```

Coefficients:

```
                Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)          1.13462   0.02315  49.013 <2e-16 ***
p1_dur$tratamentoexperimental 0.03528   0.03245   1.087   0.277
```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

Null deviance: 2487.0 on 1199 degrees of freedom
Residual deviance: 2485.8 on 1198 degrees of freedom
AIC: 5568.3
Number of Fisher Scoring iterations: 5

```
> exp(coef(glm_p_p1_dur))
      (Intercept) p1_dur$tratamentoexperimental
      3.110000      1.035906
```

> # GLM Poisson P2 período durante experimento
glm(formula = p2_dur\$riqueza ~ p2_dur\$tratamento, family = poisson(log))

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.9949	-1.3074	0.2388	1.0966	2.6053

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	1.49460	0.02607	57.324	<2e-16 ***
p2_dur\$tratamentoexperimental	0.00610	0.03682	0.166	0.868

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

Null deviance: 1308.2 on 659 degrees of freedom
Residual deviance: 1308.2 on 658 degrees of freedom
AIC: 3327.6
Number of Fisher Scoring iterations: 5

```
> exp(coef(glm_p_p2_dur))
      (Intercept) p2_dur$tratamentoexperimental
      4.457576      1.006118
```

```
> # GLM Quasi-Poisson P1 período pré experimento
glm(formula = p1_pre$riqueza ~ p1_pre$tratamento, family = quasipoisson)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.86589	-0.57388	0.00334	0.48454	2.08239

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	1.38463	0.03757	36.86	<2e-16 ***
p1_pre\$tratamentoexperimental	0.02799	0.05276	0.53	0.596

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for quasipoisson family taken to be 0.8454422)

Null deviance: 303.26 on 299 degrees of freedom

Residual deviance: 303.02 on 298 degrees of freedom

AIC: NA

Number of Fisher Scoring iterations: 4

```
> exp(coef(glm_qp_p1_pre))
```

(Intercept)	p1_pre\$tratamentoexperimental
3.993333	1.028381

```
> # GLM Quasi-Poisson P2 período pré experimento
```

```
glm(formula = p2_pre$riqueza ~ p2_pre$tratamento, family = quasipoisson)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.93712	-0.66938	-0.09838	0.76632	2.39792

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	1.46171	0.04130	35.392	<2e-16 ***

```
p2_pre$tratamentoexperimental -0.02663  0.05880 -0.453  0.651
```

```
---
```

```
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
(Dispersion parameter for quasipoisson family taken to be 1.103584)
```

```
Null deviance: 385.32  on 299  degrees of freedom
```

```
Residual deviance: 385.09  on 298  degrees of freedom
```

```
AIC: NA
```

```
Number of Fisher Scoring iterations: 5
```

```
> exp(coef(glm_qp_p2_pre))
```

```
      (Intercept) p2_pre$tratamentoexperimental
```

```
      4.3133333          0.9737249
```

```
> # GLM Quasi-Poisson P1 período durante experimento
```

```
glm(formula = p1_dur$riqueza ~ p1_dur$tratamento, family = quasipoisson)
```

```
Deviance Residuals:
```

```
      Min       1Q   Median       3Q      Max
-2.53837 -1.39669 -0.06275  0.98395  3.09504
```

```
Coefficients:
```

```
      Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
```

```
(Intercept)          1.13462  0.03024  37.515 <2e-16 ***
```

```
p1_dur$tratamentoexperimental 0.03528  0.04240  0.832  0.406
```

```
---
```

```
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

```
(Dispersion parameter for quasipoisson family taken to be 1.706861)
```

```
Null deviance: 2487.0  on 1199  degrees of freedom
```

```
Residual deviance: 2485.8  on 1198  degrees of freedom
```

```
AIC: NA
```

Number of Fisher Scoring iterations: 5

```
> exp(coef(glm_qp_p1_dur))
```

```
(Intercept) p1_dur$tratamentoexperimental
3.110000      1.035906
```

```
> # GLM Quasi-Poisson P2 período durante experimento
```

```
glm(formula = p2_dur$riqueza ~ p2_dur$tratamento, family = quasipoisson)
```

Deviance Residuals:

```
   Min    1Q  Median    3Q   Max
-2.9949 -1.3074  0.2388  1.0966  2.6053
```

Coefficients:

```
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)      1.49460   0.03368  44.374 <2e-16 ***
p2_dur$tratamentoexperimental 0.00610   0.04756  0.128  0.898
```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for quasipoisson family taken to be 1.668795)

Null deviance: 1308.2 on 659 degrees of freedom

Residual deviance: 1308.2 on 658 degrees of freedom

AIC: NA

Number of Fisher Scoring iterations: 5

```
> exp(coef(glm_qp_p2_dur))
```

```
(Intercept) p2_dur$tratamentoexperimental
4.457576      1.006118
```

```
> # GLM Binomial Negativo P1 período pré experimento
```

```
glm.nb(formula = p1_pre$riqueza ~ p1_pre$tratamento, init.theta =
66050.40854, link = log)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.86585	-0.57386	0.00334	0.48453	2.08231

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	1.38463	0.04086	33.887	<2e-16 ***
p1_pre\$tratamentoexperimental	0.02799	0.05738	0.488	0.626

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for Negative Binomial(66050.41) family taken to be 1)

Null deviance: 303.24 on 299 degrees of freedom

Residual deviance: 303.00 on 298 degrees of freedom

AIC: 1241.9

Number of Fisher Scoring iterations: 1

Theta: 66050

Std. Err.: 667245

Warning while fitting theta: iteration limit reached

2 x log-likelihood: -1235.913

```
> exp(coef(glm_nb_p1_pre))
```

(Intercept)	p1_pre\$tratamentoexperimental
3.993333	1.028381

```
> # GLM Binomial Negativo P2 período pré experimento
```

```
glm.nb(formula = p2_pre$riqueza ~ p2_pre$tratamento, init.theta =  
36.86385947, link = log)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.85625	-0.63697	-0.09329	0.72048	2.22864

Coefficients:

```
                Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)          1.46171   0.04155  35.18 <2e-16 ***
p2_pre$tratamentoexperimental -0.02663   0.05912  -0.45  0.652
```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for Negative Binomial(36.8639) family taken to be 1)

Null deviance: 351.22 on 299 degrees of freedom

Residual deviance: 351.02 on 298 degrees of freedom

AIC: 1324.5

Number of Fisher Scoring iterations: 1

Theta: 36.9

Std. Err.: 31.7

2 x log-likelihood: -1318.467

```
> exp(coef(glm_nb_p2_pre))
```

```
      (Intercept) p2_pre$tratamentoexperimental
      4.3133333      0.9737249
```

```
> # GLM Binomial Negativo P1 período durante experimento
```

```
glm.nb(formula = p1_dur$rriqueza ~ p1_dur$tratamento, init.theta =
3.12419958, link = log)
```

Deviance Residuals:

```
      Min      1Q   Median      3Q      Max
-2.10423 -1.06715 -0.04455  0.66755  1.95442
```

Coefficients:

```
                Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)          1.13462   0.03270  34.697 <2e-16 ***
p1_dur$tratamentoexperimental 0.03528   0.04605  0.766  0.444
```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
 (Dispersion parameter for Negative Binomial(3.1242) family taken to be 1)
 Null deviance: 1446.1 on 1199 degrees of freedom
 Residual deviance: 1445.5 on 1198 degrees of freedom
 AIC: 5309.2
 Number of Fisher Scoring iterations: 1
 Theta: 3.124
 Std. Err.: 0.296
 2 x log-likelihood: -5303.170

```
> exp(coef(glm_nb_p1_dur))
      (Intercept) p1_dur$tratamentoexperimental
           3.110000           1.035906
```

```
> # GLM Binomial Negativo P2 período durante experimento
glm.nb(formula = p2_dur$riqueza ~ p2_dur$tratamento, init.theta =
4.89326553, link = log)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-2.5232	-0.9990	0.1710	0.7625	1.7355

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	1.49460	0.03604	41.47	<2e-16 ***
p2_dur\$tratamentoexperimental	0.00610	0.05093	0.12	0.905

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
 (Dispersion parameter for Negative Binomial(4.8933) family taken to be 1)
 Null deviance: 772.36 on 659 degrees of freedom
 Residual deviance: 772.35 on 658 degrees of freedom
 AIC: 3201.6

Number of Fisher Scoring iterations: 1

Theta: 4.893

Std. Err.: 0.640

2 x log-likelihood: -3195.559

```
> exp(coef(glm_nb_p2_dur))
```

```
(Intercept) p2_dur$tratamentoexperimental
```

```
4.457576          1.006118
```

```
> # GLM Poisson Zero Inflado P1 período pré experimento  
zeroinfl(formula = p1_pre$riqueza ~ p1_pre$tratamento)
```

Pearson residuals:

```
Min    1Q  Median    3Q    Max
```

```
-1.991493 -0.526254 0.003325 0.502029 2.326931
```

Count model coefficients (poisson with log link):

```
Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
```

```
(Intercept)          1.38635  0.04247 32.640 <2e-16 ***
```

```
p1_pre$tratamentoexperimental 0.04480  0.05950  0.753  0.451
```

Zero-inflation model coefficients (binomial with logit link):

```
Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
```

```
(Intercept)          -6.364   7.027 -0.906  0.365
```

```
p1_pre$tratamentoexperimental  2.385   7.076  0.337  0.736
```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Number of iterations in BFGS optimization: 23

Log-likelihood: -616.8 on 4 Df

```
> exp(coef(glm_z_p1_pre))
```

```
count_(Intercept)          4.000213825
```

```
count_p1_pre$tratamentoexperimental      1.045821937
zero_(Intercept) 0.001723017
zero_p1_pre$tratamentoexperimental 10.860114952
```

```
> vuong(glm_nb_p1_pre, glm_z_p1_pre)
```

Vuong Non-Nested Hypothesis Test-Statistic:

(test-statistic is asymptotically distributed $N(0,1)$ under the null that the models are indistinguishable)

	Vuong z-statistic	H_A	p-value
## Raw	-0.6822371	model2 > model1	0.24754
## AIC-corrected	0.5263643	model1 > model2	0.29932
## BIC-corrected	2.7645627	model1 > model2	0.00285

```
> # GLM Poisson Zero Inflado P2 período pré experimento
zeroinfl(formula = p2_pre$riqueza ~ p2_pre$tratamento)
```

Pearson residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.99644	-0.57903	-0.09507	0.74363	2.75699

Count model coefficients (poisson with log link):

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	1.50542	0.04034	37.32	<2e-16 ***
p2_pre\$tratamentoexperimental	-0.05762	0.05761	-1.00	0.317

Zero-inflation model coefficients (binomial with logit link):

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-3.1084	0.4557	-6.821	9.01e-12 ***
p2_pre\$tratamentoexperimental	-1.2502	1.1796	-1.060	0.289

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Number of iterations in BFGS optimization: 9

Log-likelihood: -653.6 on 4 Df

```
>> exp(coef(glm_z_p2_pre))
```

```
count_(Intercept)          4.50602586
count_p2_pre$tratamentoexperimental  0.94401311
zero_(Intercept)           0.04467366
zero_p2_pre$tratamentoexperimental  0.28645611
```

```
> vuong(glm_nb_p2_pre, glm_z_p2_pre)
```

Vuong Non-Nested Hypothesis Test-Statistic:

(test-statistic is asymptotically distributed $N(0,1)$ under the null that the models are indistinguishable)

```
-----
##
## AIC-corrected
                Vuong z-statistic      H_A p-value
## Raw                -1.51040608 model2 > model1 0.06547
## AIC-corrected      -0.96987798 model2 > model1 0.16605
## BIC-corrected      0.03112128 model1 > model2 0.48759
```

```
> # GLM Poisson Zero Inflado P1 período durante experimento
zeroinfl(formula = p1_dur$riqueza ~ p1_dur$tratamento)
```

Pearson residuals:

```
  Min   1Q Median   3Q   Max
-1.4956 -0.9897 -0.0529  0.9089  3.3134
```

Count model coefficients (poisson with log link):

```
                Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)          1.25286   0.02452  51.087 <2e-16 ***
p1_dur$tratamentoexperimental  0.07841   0.03419   2.294  0.0218 *
```

Zero-inflation model coefficients (binomial with logit link):

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-2.0754	0.1486	-13.963	<2e-16 ***
p1_dur\$tratamentoexperimental	0.3331	0.1936	1.721	0.0853 .

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Number of iterations in BFGS optimization: 8

Log-likelihood: -2635 on 4 Df

```
> exp(coef(glm_z_p1_dur))
```

count_(Intercept)	3.5003293
count_p1_dur\$tratamentoexperimental	1.0815709
zero_(Intercept)	0.1255078
zero_p1_dur\$tratamentoexperimental	1.3953144

```
> vuong(glm_nb_p1_dur, glm_z_p1_dur)
```

Vuong Non-Nested Hypothesis Test-Statistic:

(test-statistic is asymptotically distributed $N(0,1)$ under the null that the models are indistinguishable)

	Vuong z-statistic	H_A	p-value
## Raw	-1.1594978	model2 > model1	0.12313
## AIC-corrected	-1.0180558	model2 > model1	0.15433
## BIC-correcte	-0.6580805	model2 > model1	0.25524

```
> # GLM Poisson Zero Inflado P2 período durante experimento  
zeroinfl(formula = p2_dur$riqueza ~ p2_dur$tratamento)
```

Pearson residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.9589	-1.0112	0.2232	1.0461	2.6921

Count model coefficients (poisson with log link):

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	1.56498	0.02662	58.798	<2e-16 ***
p2_dur\$stratamentoexperimental	-0.02732	0.03763	-0.726	0.468

Zero-inflation model coefficients (binomial with logit link):

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-2.6186	0.2325	-11.264	<2e-16 ***
p2_dur\$stratamentoexperimental	-0.6611	0.4059	-1.629	0.103

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Number of iterations in BFGS optimization: 8

Log-likelihood: -1621 on 4 Df

```
> exp(coef(glm_z_p2_dur))
```

count_(Intercept)	4.78256089
count_p2_dur\$stratamentoexperimental	0.97304608
zero_(Intercept)	0.07290625
zero_p2_dur\$stratamentoexperimental	0.51626102

```
> vuong(glm_nb_p2_dur, glm_z_p2_dur)
```

Vuong Non-Nested Hypothesis Test-Statistic:

(test-statistic is asymptotically distributed $N(0,1)$ under the null that the models are indistinguishable)

```
-----  
                Vuong z-statistic      H_A p-value  
## Raw                2.123858 model1 > model2 0.0168410  
## AIC-corrected      2.305501 model1 > model2 0.0105693  
## BIC-corrected      2.713495 model1 > model2 0.0033289
```

APÊNDICE 3. Modelos estatísticos gerados para análise do parâmetro acústico “cantos por minuto”.

> # GLM Poisson cantos por minuto *P. cuvieri*

glm_p_cm_cuv = glm(cm_cuv\$taxa_canto ~ cm_cuv\$tratamento, family = poisson(log))

Call:

glm(formula = cm_cuv\$taxa_canto ~ cm_cuv\$tratamento, family = poisson(log))

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-13.005	-9.445	-4.181	6.909	16.585

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	4.60976	0.01411	326.709	< 2e-16 ***
cm_cuv\$tratamentoexperimental	0.07145	0.01961	3.644	0.000269 ***

Signif. codes: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

Null deviance: 8380.3 on 99 degrees of freedom

Residual deviance: 8367.0 on 98 degrees of freedom

AIC: 8967.5

Number of Fisher Scoring iterations: 5

> exp(coef(glm_p_cm_cuv))

(Intercept)	cm_cuv\$tratamentoexperimental
100.460000	1.074059

> # GLM Poisson cantos por minuto *S. fuscomarginatus*

glm_p_cm_fus = glm(cm_fus\$taxa_canto ~ cm_fus\$tratamento, family = poisson(log))

Call:

```
glm(formula = cm_fus$taxa_canto ~ cm_fus$tratamento, family = poisson(log))
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-7.715	-4.404	-1.954	1.976	16.170

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	3.22446	0.02821	114.321	<2e-16 ***
cm_fus\$tratamentoexperimental	0.31069	0.03713	8.368	<2e-16 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

Null deviance: 2486.1 on 99 degrees of freedom

Residual deviance: 2415.3 on 98 degrees of freedom

AIC: 2890.6

Number of Fisher Scoring iterations: 5

```
> exp(coef(glm_p_cm_fus))
```

(Intercept)	cm_fus\$tratamentoexperimental
25.14000	1.36436

```
> # GLM Poisson cantos por minuto D.jimi
```

```
glm_p_cm_jim = glm(cm_jim$taxa_canto ~ cm_jim$tratamento, family =  
poisson(log))
```

Call:

```
glm(formula = cm_jim$taxa_canto ~ cm_jim$tratamento, family = poisson(log))
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-7.3342	-3.9548	-0.6365	2.2384	10.3439

Coefficients:

```

                Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)          3.28541   0.02736 120.086 < 2e-16 ***
cm_jim$tratamentoexperimental 0.15948   0.03724   4.283 1.85e-05 ***

```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

Null deviance: 1687.3 on 99 degrees of freedom

Residual deviance: 1668.9 on 98 degrees of freedom

AIC: 2155.1

Number of Fisher Scoring iterations: 5

```
> exp(coef(glm_p_cm_jim))
```

```

(Intercept) cm_jim$tratamentoexperimental
26.720000      1.172904

```

> # GLM Poisson cantos por minuto *L. labyrinthicus/ luctator*

```
glm_p_cm_la = glm(cm_la$taxa_canto ~ cm_la$tratamento, family =
poisson(log))
```

Call:

```
glm(formula = cm_la$taxa_canto ~ cm_la$tratamento, family = poisson(log))
```

Deviance Residuals:

```

   Min     1Q  Median     3Q    Max
-4.3317 -1.2600  0.4916  1.3199  2.1845
Coefficients:

```

```

                Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)

```

```

(Intercept)          2.98438   0.04039  73.890 < 2e-16 ***
cm_la$tratamentoexperimental -0.28799   0.06756  -4.263 2.02e-05 ***

```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for poisson family taken to be 1)

Null deviance: 192.96 on 53 degrees of freedom

Residual deviance: 174.35 on 52 degrees of freedom

AIC: 425.9

Number of Fisher Scoring iterations: 4

```
> exp(coef(glm_p_cm_la))
```

```
(Intercept) cm_la$tratamentoexperimental
```

```
19.7741935          0.7497695
```

```
> # GLM Quasi Poisson cantos por minuto P. cuvieri
```

```
glm_qp_cm_cuv = glm(cm_cuv$taxa_canto ~ cm_cuv$tratamento, family =  
quasipoisson)
```

Call:

```
glm(formula = cm_cuv$taxa_canto ~ cm_cuv$tratamento, family = quasipoisson)
```

Deviance Residuals:

```
   Min     1Q  Median     3Q    Max  
-13.005 -9.445 -4.181  6.909 16.585
```

Coefficients:

```
              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)  
(Intercept)      4.60976   0.13114 35.152 <2e-16 ***  
cm_cuv$tratamentoexperimental 0.07145   0.18223  0.392  0.696
```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for quasipoisson family taken to be 86.3824)

Null deviance: 8380.3 on 99 degrees of freedom

Residual deviance: 8367.0 on 98 degrees of freedom

AIC: NA

Number of Fisher Scoring iterations: 5

```
> exp(coef(glm_qp_cm_cuv))
```

```
(Intercept) cm_cuv$tratamentoexperimental
```

100.460000 1.074059

>

> # GLM Quasi Poisson cantos por minuto *S. fuscomarginatus*

**glm_qp_cm_fus = glm(cm_fus\$taxa_canto ~ cm_fus\$tratamento, family =
quasipoisson)**

Call:

glm(formula = cm_fus\$taxa_canto ~ cm_fus\$tratamento, family = quasipoisson)

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-7.715	-4.404	-1.954	1.976	16.170

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	3.2245	0.1495	21.562	<2e-16 ***
cm_fus\$tratamentoexperimental	0.3107	0.1969	1.578	0.118

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for quasipoisson family taken to be 28.11124)

Null deviance: 2486.1 on 99 degrees of freedom

Residual deviance: 2415.3 on 98 degrees of freedom

AIC: NA

Number of Fisher Scoring iterations: 5

> exp(coef(glm_qp_cm_fus))

(Intercept)	cm_fus\$tratamentoexperimental
25.14000	1.36436

> # GLM Quasi Poisson cantos por minuto *D. jimi*

**glm_qp_cm_jim = glm(cm_jim\$taxa_canto ~ cm_jim\$tratamento, family =
quasipoisson)**

Call:

```
glm(formula = cm_jim$taxa_canto ~ cm_jim$tratamento, family = quasipoisson)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-7.3342	-3.9548	-0.6365	2.2384	10.3439

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
(Intercept)	3.2854	0.1133	29.008	<2e-16 ***
cm_jim\$tratamentoexperimental	0.1595	0.1542	1.035	0.303

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for quasipoisson family taken to be 17.13708)

Null deviance: 1687.3 on 99 degrees of freedom

Residual deviance: 1668.9 on 98 degrees of freedom

AIC: NA

Number of Fisher Scoring iterations: 5

```
> exp(coef(glm_qp_cm_jim))
```

(Intercept)	cm_jim\$tratamentoexperimental
26.720000	1.172904

```
> # GLM Quasi Poisson cantos por minuto L. labyrinthicus/ luctator
```

```
glm_qp_cm_la = glm(cm_la$taxa_canto ~ cm_la$tratamento, family =  
quasipoisson)
```

Call:

```
glm(formula = cm_la$taxa_canto ~ cm_la$tratamento, family = quasipoisson)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-4.3317	-1.2600	0.4916	1.3199	2.1845

Coefficients:

```

                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)      2.98438   0.06807  43.84 <2e-16 ***
cm_la$tratamentoexperimental -0.28799   0.11385  -2.53  0.0145 *
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
(Dispersion parameter for quasipoisson family taken to be 2.840096)
Null deviance: 192.96  on 53  degrees of freedom
Residual deviance: 174.35  on 52  degrees of freedom
AIC: NA
Number of Fisher Scoring iterations: 4

```

```

> exp(coef(glm_qp_cm_la))
                (Intercept) cm_la$tratamentoexperimental
                19.7741935                0.7497695

```

```

> # GLM Binomial negativo cantos por minuto P. cuvieri
glm_nb_cm_cuv = glm.nb(cm_cuv$taxa_canto ~ cm_cuv$tratamento)

```

```

Call:
glm.nb(formula = cm_cuv$taxa_canto ~ cm_cuv$tratamento, init.theta =
1.104414398,
link = log)

```

```

Deviance Residuals:
    Min     1Q   Median     3Q      Max
-2.0313 -1.2389 -0.4547  0.6350  1.4394

```

```

Coefficients:
                Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
(Intercept)      4.60976   0.13531  34.069 <2e-16 ***
cm_cuv$tratamentoexperimental 0.07145   0.19132  0.373  0.709
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

(Dispersion parameter for Negative Binomial(1.1044) family taken to be 1)

Null deviance: 113.48 on 99 degrees of freedom

Residual deviance: 113.34 on 98 degrees of freedom

AIC: 1135.5

Number of Fisher Scoring iterations: 1

Theta: 1.104

Std. Err.: 0.141

2 x log-likelihood: -1129.466

> exp(coef(glm_nb_cm_cuv))

(Intercept) cm_cuv\$tratamentoexperimental

100.460000

1.074059

> # GLM Binomial negativo cantos por minuto *S. fuscomarginatus*

glm_nb_cm_fus = glm.nb(cm_fus\$taxa_canto ~ cm_fus\$tratamento)

Call:

glm.nb(formula = cm_fus\$taxa_canto ~ cm_fus\$tratamento, init.theta =

1.154538298,

link = log)

Deviance Residuals:

Min 1Q Median 3Q Max

-2.2356 -0.9989 -0.4154 0.3853 2.5716

Coefficients:

Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)

(Intercept) 3.2245 0.1346 23.955 <2e-16 ***

cm_fus\$tratamentoexperimental 0.3107 0.1898 1.637 0.102

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for Negative Binomial(1.1545) family taken to be 1)

Null deviance: 114.15 on 99 degrees of freedom

Residual deviance: 111.48 on 98 degrees of freedom

AIC: 884.27

Number of Fisher Scoring iterations: 1

Theta: 1.155

Std. Err.: 0.157

2 x log-likelihood: -878.273

> exp(coef(glm_nb_cm_fus))

(Intercept) cm_fus\$tratamentoexperimental

25.14000

1.36436

> # GLM Binomial negativo cantos por minuto *D. jimi*

glm_nb_cm_jim = glm.nb(cm_jim\$taxa_canto ~ cm_jim\$tratamento)

Call:

glm.nb(formula = cm_jim\$taxa_canto ~ cm_jim\$tratamento, init.theta =

1.545378084,

link = log)

Deviance Residuals:

Min 1Q Median 3Q Max

-2.4771 -0.9982 -0.1518 0.4736 1.9750

Coefficients:

Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)

(Intercept) 3.2854 0.1170 28.079 <2e-16 ***

cm_jim\$tratamentoexperimental 0.1595 0.1651 0.966 0.334

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for Negative Binomial(1.5454) family taken to be 1)

Null deviance: 110.80 on 99 degrees of freedom

Residual deviance: 109.87 on 98 degrees of freedom

AIC: 873.71

Number of Fisher Scoring iterations: 1

Theta: 1.545

Std. Err.: 0.219

2 x log-likelihood: -867.710

```
> exp(coef(glm_nb_cm_jim))
```

```
(Intercept) cm_jim$tratamentoexperimental
```

```
26.720000
```

```
1.172904
```

```
> # GLM Binomial negativo cantos por minuto L. labyrinthicus/ luctator
```

```
glm_nb_cm_la = glm.nb(cm_la$taxa_canto ~ cm_la$tratamento)
```

Call:

```
glm.nb(formula = cm_la$taxa_canto ~ cm_la$tratamento, init.theta = 6.936324805,  
link = log)
```

Deviance Residuals:

```
Min 1Q Median 3Q Max
```

```
-2.8098 -0.7409 0.2472 0.6856 1.1647
```

Coefficients:

```
Estimate Std. Error z value Pr(>|z|)
```

```
(Intercept) 2.98438 0.07926 37.654 <2e-16 ***
```

```
cm_la$tratamentoexperimental -0.28799 0.12443 -2.314 0.0206 *
```

```
---
```

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for Negative Binomial(6.9363) family taken to be 1)

Null deviance: 64.884 on 53 degrees of freedom

Residual deviance: 59.559 on 52 degrees of freedom

AIC: 379.36

Number of Fisher Scoring iterations: 1

Theta: 6.94

Std. Err.: 2.03

```
2 x log-likelihood: -373.365
> exp(coef(glm_nb_cm_la))
      (Intercept) cm_la$tratamentoexperimental
      19.7741935      0.7497695
```