

1. Identificação do Projeto

Título do Projeto PIBIC/PAIC

Efeito do tamanho corporal e da temperatura ambiental sobre parâmetros temporais e espectrais da vocalização de anúncio de *Allobates* sp. (Anura, Aromobatidae)

Orientador

Igor Luis Kaefer

Aluno

Naicyele Ketlem de Sousa Ferreira

2. Informações de Acesso ao Documento

2.1 Este documento é confidencial?

☐

SIM

☒

NÃO

2.2 Este trabalho ocasionará registro de patente?

☐

SIM

☒

NÃO

2.3 Este trabalho pode ser liberado para reprodução?

☐

SIM

☒

NÃO

2. 4 Em caso de liberação parcial, quais dados podem ser liberados? Especifique.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
COMITÊ CIENTÍFICO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

EFEITO DO TAMANHO CORPORAL E DA TEMPERATURA AMBIENTAL
SOBRE PARÂMETROS TEMPORAIS E ESPECTRAIS DA VOCALIZAÇÃO DE
ANÚNCIO DE *Allobates* sp. (ANURA, AROMOBATIDAE)

Naicyele Ketlem de Sousa Ferreira, CNPq

Manaus
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA
COMITÊ CIENTÍFICO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RELATÓRIO FINAL

PIB-B/0071/2015

EFEITO DO TAMANHO CORPORAL E DA TEMPERATURA AMBIENTAL
SOBRE PARÂMETROS TEMPORAIS E ESPECTRAIS DA VOCALIZAÇÃO DE
ANÚNCIO DE *Allobates* sp. (ANURA, AROMOBATIDAE)

Naicyele Ketlem de Sousa Ferreira, CNPq

Orientador: IGOR LUIS KAEFER

Manaus

2016

Sumário

1. RESUMO.....	05
2. INTRODUÇÃO.....	06
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	08
4. RESULTADOS.....	10
5. DISCUSSÃO.....	11
6. CONCLUSÃO.....	12
7. REFERÊNCIAS.....	12
8. CRONOGRAMA.....	14

1. Resumo

Sabe-se que tanto o tamanho corporal quanto a temperatura ambiental podem influenciar parâmetros acústicos da vocalização de anúncio, a qual é utilizada como sinal sexual em anfíbios anuros. Esses fatores podem exercer influência sobre características espectrais (relacionadas à frequência) e temporais (relacionadas à duração) do canto, tais como a frequência dominante, o número de pulsos, a duração e a taxa de repetição das notas. Detectar e isolar o efeito dessas duas variáveis que atuam sobre a vocalização de anúncio em tempo ecológico é fundamental para estudos posteriores que possam avaliar a variabilidade geográfica e a evolução desse tipo de sinal. Desse modo, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito do tamanho corporal e da temperatura ambiental sobre parâmetros acústicos da vocalização de anúncio de *Allobates tapajos* em florestas de terra firme da bacia do Rio Tapajós, para 1) testar o efeito do tamanho corporal e da temperatura ambiental sobre parâmetros temporais e espectrais da vocalização de anúncio e 2) caracterizar a magnitude do efeito do tamanho corporal e da temperatura ambiental sobre parâmetros temporais e espectrais desse sinal. Para isso, foi realizada a obtenção de gravações acústicas em seis pontos localizados em floresta de terra firme em ambas as margens do baixo Rio Tapajós, no estado do Pará. Pelo menos sete indivíduos foram gravados em cada localidade. Em campo, também foram aferidos o tamanho corporal do indivíduo emissor do sinal e a temperatura do ar no momento da gravação. A partir das gravações foram obtidos parâmetros temporais e espectrais através da utilização do programa computacional Raven Pro 1.3. Análises de regressão linear não apontaram relação entre as variáveis preditoras e características do canto de anúncio de *A. tapajos*. Esses resultados indicam que o padrão comumente reportado de influência de fatores ambientais e morfológicos sobre as características do canto de anúncio de anuros pode não ser observado em espécies tropicais e de pequeno porte como *A. tapajos* onde tanto a temperatura quanto o tamanho corporal sofrem pequena variação entre as amostras. Por não sofrer influência das variáveis testadas que atuam em tempo ecológico, consideramos o canto de anúncio de *A. tapajos* como um conjunto de caracteres promissor em estudos microevolutivos.

Palavras-chave: Amphibia, bioacústica, comportamento.

2. Introdução

A emissão de sinais acústicos (vocalizações) em anfíbios anuros possibilita a comunicação intra- e interespecífica (Gerhardt & Huber, 2002). O canto de anúncio é um tipo de sinal que é emitido por machos e tem como função informar a localização do emissor para outros machos, bem como atração de fêmeas para cópula (Wells, 2007). Visto que o canto de anúncio é I) espécie-específico; II) importante para reconhecimento e escolha sexual dos indivíduos e III) emitido continuamente, este torna-se uma característica importante em estudos sobre a taxonomia, ecologia, comportamento e evolução de anuros (Gerhardt, 1988; Duellman & Trueb, 1994; Padial et al., 2009). Assim, frequentemente é possível reconhecer uma espécie de anuro já descrita somente através de sua vocalização, e ainda acessar sua localização espacial. Entretanto, variações no canto de diferentes indivíduos da mesma espécie ocorrem devido a fatores intrínsecos ao animal, com destaque para a temperatura e o tamanho corporal do emissor (Gerhardt & Huber, 2002). Tais fatores podem exercer influência sobre características espectrais (relacionadas à frequência) e temporais (relacionadas à duração) do canto, tais como a frequência dominante, o número de pulsos, a duração e a taxa de repetição das notas (Zina & Haddad, 2005; Kaefer et al. 2012). Esta influência pode confundir estudos ecológicos, evolutivos e de taxonomia que não considerem tais covariáveis em abordagens comparativas entre indivíduos, populações e espécies (Gerhardt & Huber, 2002).

Como animais ectotérmicos, anfíbios possuem características de suas vocalizações – especialmente de natureza temporal – que são sujeitas à temperatura ambiental (Prestwich 1994). Estudos recentes têm demonstrado que a plasticidade em sinais sexuais acústicos pode ser fortemente induzida pela temperatura: algumas propriedades do canto de *Allobates* podem variar em até 45% por conta desta variável (Kaefer et al. 2012). Alternativamente, os efeitos do tamanho corporal sobre as vocalizações de anuros e outros animais são normalmente restritos a caracteres espectrais (Gerhardt & Huber 2002). Também foi reportada pronunciada plasticidade (41 a 43%) em caracteres

espectrais diretamente relacionada ao tamanho corporal dos emissores (Kaefer et al. 2012). Por conta da natureza estática de caracteres espectrais, é sugerido que estes constituam sinais honestos que indicam tamanho corporal em machos de anfíbios anuros (e.g., Bee et al. 2000). Embora o tamanho corporal e a temperatura sejam comumente considerados covariáveis em estudos comparativos, os efeitos destes dificilmente são testados separadamente para cada propriedade do sinal sexual. Além disso, quantificações desses efeitos sobre os parâmetros acústicos são pouco reportadas.

Allobates é um gênero da família Aromobatidae, incluindo 51 espécies distribuídas da Nicarágua à Bacia Amazônica e da Bolívia às Guianas e região Sudeste do Brasil (Grant et al. 2006, Frost 2016). A sistemática da família recentemente passou por mudanças significativas (Grant et al. 2006, Pyron & Wiens 2011) baseadas em filogenias moleculares e dados morfológicos. O clado monofilético Dendrobatoidea atualmente inclui as famílias Aromobatidae e Dendrobatidae. O modelo de estudo é *Allobates tapajos* (Figura 1), uma espécie recentemente descrita por Lima et al. (2015). Trata-se de um anuro de liteira, possuindo distribuição conhecida para ambas as margens do Rio Tapajós (Maia, 2016), onde habita ambientes florestais próximos a riachos. Possui hábitos diurnos, sendo mais ativa no início da manhã e no final da tarde (Lima et al. 2015). Juntamente com *A. masniger* e *A. magnussoni*, *A. tapajos* é a terceira espécie recentemente descrita de *Allobates* com a sua localidade tipo atribuída a uma única unidade de conservação no bioma Amazônia: Parque Nacional da Amazônia (Lima et al. 2015). Populações adicionais foram encontradas em ambas as margens do Rio Tapajós permitindo que, além de um estudo taxonômico, questões sobre a variabilidade do sinal sexual da espécie em relação a duas importantes covariáveis em estudos comparativos (temperatura e tamanho corporal) possam ser investigadas.



Figura 1 – Indivíduo de *Allobates tapajos* em atividade de vocalização.

3. Material e métodos

A obtenção de gravações acústicas foi realizada em seis pontos localizados em floresta de terra firme em ambas as margens do baixo e médio Rio Tapajós, entre as cidades de Santarém e Itaituba, Pará (Figura 1). Pelo menos sete indivíduos foram gravados em cada localidade. Cada ponto de amostragem será considerado como uma população da espécie. As áreas de coleta foram estabelecidas em locais onde foram encontrados indivíduos de *Allobates tapajos* em atividade de vocalização. As atividades de campo foram realizadas no período diurno durante a estação chuvosa, a qual compreende a época de reprodução de *Allobates*.

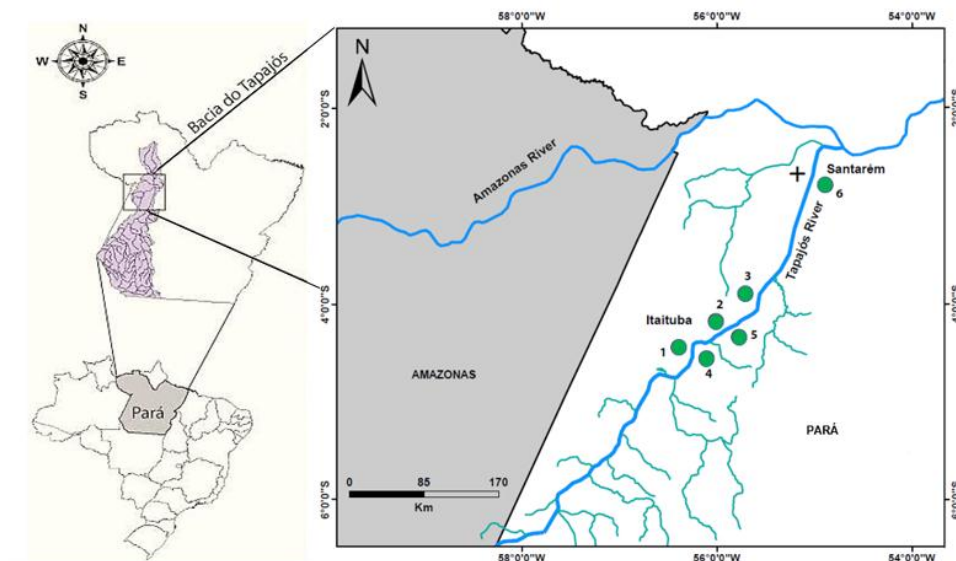


Figura 2 - Localização geográfica da área de estudo no estado do Pará, Brasil. O Parque Nacional da Amazônia, representado pelo ponto 1, é a localidade-tipo de *Allobates tapajos*.

Os cantos de anúncio de machos de *Allobates* foram registrados com gravador digital Marantz PMD660 acoplado a microfone direcional AKG 568 EB, posicionado a 1,5 m do animal em atividade de vocalização. Cada gravação foi constituída por uma sessão de três minutos. Para cada registro, foram anotados o horário e a temperatura do ar no sítio de vocalização do animal no momento da gravação.

Os indivíduos gravados foram coletados manualmente e transportados para um laboratório improvisado em acampamento. Os animais foram mortos por aplicação de pomada tópica de benzocaína e tiveram o comprimento rostro-cloacal (CRC, em mm) aferido com paquímetro digital de precisão de 0.01 mm. Por fim, os animais foram etiquetados, fixados em formol comercial diluído a 10% e conservados em álcool etílico a 70%. Após as análises, espécimes-testemunhos foram depositados junto à Coleção de Anfíbios e Répteis do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brasil.

Foram obtidos parâmetros temporais (duração das notas, intervalos entre notas, duração e taxa de repetição das sequências de notas) e espectrais (frequências máxima, mais grave e mais aguda das notas) a partir de seleções realizadas através da utilização da ferramenta “Selection spectrum”

do programa computacional Raven Pro 1.3 (Charif *et al.* 2008) sobre os oscilogramas gerados. Esses parâmetros foram extraídos a partir de 10 cantos (duplas de notas) de uma mesma gravação de cada indivíduo. A média aritmética dos valores obtidos para cada parâmetro constituiu o valor final para cada indivíduo de *Allobates*.

A normalidade dos conjuntos de dados foi testada. Alguns dados foram logaritmizados antes da condução de testes estatísticos paramétricos. A diferenciação em tamanho corporal dos indivíduos entre margens do rio foi avaliada por meio de teste t de Student. Para avaliar o efeito da temperatura e do tamanho corporal sobre cada um dos sete parâmetros do canto, realizamos análises de regressão linear.

4. Resultados

Foram analisados 47 indivíduos de 6 populações. A duração média da nota foi 0,03 s ($\pm 0,003$; 0,02-0,03 s); do intervalo entre as notas, 0,14s ($\pm 0,02$; 0,10-0,21 s); da repetição de notas, 5,82 s ($\pm 0,66$; 4,21-7,07 s); do intervalo entre os cantos, 0,44 s ($\pm 0,06$; 0,31-0,70 s); da frequência baixa, 5090,31 Hz ($\pm 166,79$; 4785,19-5565,15 Hz); da frequência alta, 5961,06 Hz ($\pm 176,36$; 5656,22-6506,03 Hz); e da frequência pico, 5658,08 Hz ($\pm 211,43$; 5303,10-5999,68 Hz).

Nenhuma das variáveis teve relação significativa com o tamanho corporal e a temperatura no teste de regressão linear (Tabela 1). Em relação ao tamanho corporal, não houve relação no teste t entre as margens direita (média, desvio e amplitude) esquerda (média desvio e amplitude) do rio ($t = 1,2$; $p = 0,21$).

Tabela 1- Relação das propriedades do canto de anúncio de *Allobates tapajos* com o tamanho corporal (amplitude =14,3-16,8 mm) e a temperatura ambiental no momento da gravação (amplitude =23,7-28,5 C°). r^2 =regressão linear simples e p = significância da relação.

Variáveis acústicas	CRC		Temperatura	
	r ²	p	r ²	p
Dur. Nota	-0,014	0,57	0,043	0,08
Inter. Nota	-0,022	0,98	-0,022	0,96
Inter. Canto	-0,022	0,97	-0,017	0,65
Rep. Nota	-0,022	0,94	-0,02	0,79
Freq. Baixa	-0,018	0,67	-0,019	0,73
Freq. Alta	-0,019	0,72	-0,021	0,83
Freq. Pico	-0,016	0,62	-0,021	0,86

5. Discussão

No presente estudo não encontramos relação do tamanho corporal do emissor e da temperatura ambiental sobre nenhuma das características do canto de anúncio de *A. tapajos*. Tanto o tamanho corporal quanto a temperatura podem causar variações no canto de indivíduos da mesma espécie (Gerhardt & Huber, 2002). A temperatura é considerada um cofator em estudos acústicos e seus efeitos são levados em consideração em estudos comparativos entre indivíduos, populações ou espécies por afetarem as taxas metabólicas principalmente em animais ectotérmicos (Prestwich, 1994). O tamanho corporal é outro cofator utilizado para estudos comparativos, conhecido por afetar as características da chamada relacionadas à frequência (Ryan, 1988; Wells, 2007): tipicamente, indivíduos maiores produzem sons mais graves. Isso se deve à correlação entre tamanho do indivíduo com a massa e ressonância da laringe, estrutura utilizada na produção de som (McClelland *et al.*, 1996).

Dessa forma, a que se deve a ausência de relação entre as variáveis preditoras e resposta observada na presente investigação? Nossos resultados indicam que ela esteja relacionada à baixa variação tanto da temperatura quanto do tamanho corporal observados ao longo da distribuição da espécie, a qual foi sempre localizada em atividade de vocalização no início da manhã e ao final da tarde em áreas florestais de terra firme. Apesar de contrário à nossa previsão, tal resultado já foi reportado para anuros tropicais: Pröhl (2003)

também não encontrou correlação entre as propriedades do canto e comprimento corporal de *Dendrobates pumilio* na Costa Rica. De acordo com o estudo de Lingnau e Bastos (2007) também não houve correlação do tamanho corporal de *Hylodes heyeri* com nenhum dos parâmetros acústicos.

Por não sofrer influência das variáveis testadas que atuam em tempo ecológico, consideramos o canto de anúncio de *A. tapajos* como um conjunto de caracteres adequado para estudos microevolutivos, especialmente de cunho filogeográfico. Isso se deve ao fato de que estudos dessa natureza avaliam a variabilidade de sinais que carreguem a maior carga de sinal filogenético livre do ruído representado pelo efeito de variáveis ambientais e morfológicas que atuam em tempo ecológico (Avisé, 2004). Visto que a geografia desempenha um papel importante na evolução e diferenciação de sinais acústicos (Wycherley et al., 2002; Pröhl et al., 2007), a espécie *A. tapajos* configura um sistema de estudo promissor no estudo da evolução da variabilidade geográfica populacional em sinais sexuais no bioma amazônico.

6. Conclusão

A temperatura e o tamanho corporal dos indivíduos não influenciaram as propriedades temporais e espectrais do canto de anúncio da espécie estudada. Ambas as variáveis preditoras tiveram baixa amplitude de variação e esta pode ser a causa do resultado observado. A vocalização de *Allobates tapajos* é, portanto, um sinal sexual livre da influência dessas duas variáveis que atuam em tempo ecológico e adequado para investigações de cunho microevolutivo.

7. Referências

Avisé, J. C. 2004. Molecular markers, natural history and evolution. Sunderland: Sinauer Associates Inc. Massachusetts.

Bee, M.A.; Perrill, S.A.; Owen, P.C. 2000. Male green frogs lower the pitch of acoustic signals in defense of territories: a possible dishonest signal of size? *Behavioral Ecology*, 11: 169-177.

Charif, R.A.; Waack, A.M.; Strickman, L.M. 2008. Raven Pro 1.3 User's Manual. Cornell Laboratory of Ornithology, Ithaca, New York.

Duellman, W.E. & Trueb, L. 1994. Biology of Amphibians. McGraw-Hill, New York.

Frost, Darrel R. 2014. Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.0 (04/09/2014). Base de dados eletrônica acessado em: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History. New York. USA.

Gerhardt, H.C. 1988. Acoustic properties used in call recognition by frogs and toads. In: Fietzsch, B.M.; Ryan, M.J.; Wilczynski, W.; Hetherington, T.E. & Walkowiak, W. (Eds.), The evolution of the amphibian auditory system. John Wiley & Sons, New York, p. 455-483.

Gerhardt, H.C.; Huber, F. 2002. Acoustic communication in insects and anurans: common problems and diverse solutions. University of Chicago Press, Chicago.

Grant, T.; Frost, D.R.; Caldwell, J.P.; Gagliardo, R.; Haddad, C.F.B.; Kok, P.J.R.; Means, B.D.; Noonan, B.P.; Schargel, W.; Wheeler, W.C. 2006. Phylogenetic systematics of dart-poison frogs and their relatives (Anura: Athesphatanura: Dendrobatidae). Bulletin of the American Museum of Natural History, 299: 1-262.

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

Kaefer, I. L.; Tsuji-Nishikido, B. M., & Lima, A. P. 2012. Beyond the river: underlying determinants of population acoustic signal variability in Amazonian direct-developing *Allobates* (Anura:Dendrobatoidea). Acta Ethologica, 15: 187–194.

Lingnau, R; Bastos, R. P. 2007. Vocalizations of the Brazilian torrent frog *Hylodes heyeri* (Anura: Hylodidae): Repertoire and influence of air temperature on advertisement call variation. Journal of Natural History, 41(17-20): 1227-1235.

Lima, A. P.; Simões, P. I.; Kaefer, I. L. 2015. A new species of *Allobates* (Anura: Aromobatidae) from Parque Nacional da Amazônia, Pará State, Brazil. Zootaxa, 4: 501-525.

Maia, G. F. Genes, formas e sons revelam estágio incipiente de especiação alopátrica no anuro amazônico *Allobates tapajos* (Dendrobatidae). Manaus: INPA, 2016. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Programa de Pós-Graduação Em Ecologia, Instituto Nacional de Pesquisa da Amazônia, Manaus 2016.

McClelland, B.E.; Wilczynski, W. & Ryan, M.J. 1996. Correlations between call characteristics and morphology in male cricket frogs (*Acris crepitans*). — J. Exp. Biol. 199: 1907-1919.

Padial, J.M.; Castroviejo-Fisher, S.; Köhler, J. Vilà, C.; Chaparro, J. C. & De La Riva, I. 2009. Deciphering the products of evolution at the species level: the need for an integrative taxonomy. Zoologica Scripta 4: 431-447.

Prestwich, K.N. 1994. The energetics of acoustic signaling in anurans and insects. American Zoologist, 34: 625-643.

Pröhl, H. 2003. Variation in male calling behaviour and relation to male mating success in the strawberry poison frog (*Dendrobates pumilio*). Ethology, 109: 273-290.

Pröhl, H.; Hagemann, S.; Karsch, J.; Höbel, G. 2007. Geographic variation in male sexual signals in Strawberry Poison Frogs (*Dendrobates pumilio*). Ethology 113:825–837

Ryan, M. J. 1988. Energy, calling, and selection. American Zoologist, 28: 885-898.

Wells, K.D. 2007. The ecology and behavior of amphibians. The University of Chicago Press, Chicago.

Wycheley, J.; Doran, S.; Beebee, TJC. 2002. Male advertisement call characters as phylogeographical indicators in European water frogs. Biol J Linn Soc 77:355–365.

Zina, J. & Haddad, C. F. B. 2005. Reproductive activity and vocalizations of *Leptodactylus labyrinthicus* (Anura: Leptodactylidae). Biota Neotropica, 5(2): 1-11.

7. Cronograma

As atividades desse projeto envolvem a análise de dados previamente coletados no âmbito do projeto “Using frogs and snakes as model species to explore processes generating intra-specific phenotypic variation in terrestrial vertebrates of the Amazon basin” financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Nº	Descrição	ago 2015	Set	Out	Nov	Dez	Jan 2016	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul
1	Revisão bibliográfica	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
2	Treinamento para uso do programa computacional Raven Pro 1.3	x											
3	Obtenção de parâmetros temporais e espectrais a partir das gravações acústicas		x	x	x	x							
4	Análise estatística do conjunto de dados						x	x	x				
5	Redação do relatório final/manuscrito para publicação								x	x	x	x	
6	Elaboração do Resumo e Relatório Final (atividade obrigatória)											x	
7	Preparação da Apresentação Final para o Congresso (atividade obrigatória)												x