



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA

Campus São Gabriel

GUILHERME MARTINS GUEDES

**Quando cantam as pererecas: turno de vocalização da *Phyllomedusa iheringii*
(Anura: Hylidae)**

**São Gabriel/RS
2024**

GUILHERME MARTINS GUEDES

**Quando cantam as pererecas: turno de vocalização da *Phyllomedusa iheringii*
(Anura: Hylidae)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do
Pampa, como requisito parcial para
obtenção do Título de Bacharel em
Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Tiago Gomes dos
Santos

Coorientador: Dr. Moisés Escalona

**São Gabriel/RS
2024**

G956q Guedes, Guilherme Martins

Quando cantam as pererecas: Turno de vocalização da
Phyllomedusa iheringii (Anura: Hylidae) / Guilherme Martins
Guedes.

40 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -- Universidade
Federal do Pampa, CIÊNCIAS BIOLÓGICAS, 2024.

"Orientação: Tiago Gomes dos Santos Santos".

1. Herpetologia. 2. Anura. 3. Sítio reprodutivo. 4.
Bioacústica. 5. Turno de vocalização. I. Título.

GUILHERME MARTINS GUEDES

**Quando cantam as pererecas: turno de vocalização da *Phyllomedusa iheringii*
(Anura: Hylidae)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Ciências
Biológicas da Universidade Federal do
Pampa, como requisito parcial para
obtenção do Título de Bacharel em
Ciências Biológicas.

Área de concentração: Herpetologia

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em 12 de Julho de 2024.

Banca examinadora:

Prof. Tiago Gomes dos Santos
Orientador
UNIPAMPA - São Gabriel

Biól. Guilherme Castro Franco de Lima
UNESP - São José do Rio Preto

Prof. MSc. Avelino Raimundo Miguel
Universidade Zambeze/PPG em Biodiversidade Animal – UFSM

Dedico este trabalho à minha avó Catarina Joice Camargo Martins, que vivia cantando, cujo amor, apoio e sabedoria continuam a inspirar minha jornada.

AGRADECIMENTOS

Concluir este trabalho é uma conquista que não seria possível sem o carinho e o apoio de muitas pessoas especiais. Gostaria de expressar minha mais sincera gratidão a todos que me acompanharam nesta jornada até este momento.

Primeiramente, agradeço à minha família. Aos meus pais, Roze Nara Camargo Martins Guedes e Salomão Pilar Guedes, que sempre estiveram ao meu lado, oferecendo amor, apoio e incentivo para continuar estudando.

Ao meu amor, Marcos Pires Tondolo, agradeço por ser cuidadoso, amoroso, atencioso e companheiro verdadeiro, sempre ao meu lado, me amando e apoiando em cada decisão. Eu te amo e amo nossa jornada juntos.

Aos meus amigos(as)/primos(as)/irmãos(ãs), pelo companheirismo e pelas palavras de encorajamento nos momentos mais aleatórios, desde carregar plantas e paus para construir lagos até os momentos mais difíceis como crises de ansiedade e tristeza. Vocês são minha maior fonte de força e inspiração. Bruno Oliveira, Isadora Borges, Gabriel Silveira, Jéssica de Góes, Jorge Marques, Letícia Dornelles, Ketelyn Tuane Martins, Maicon Vaz, Maurício Guedes, Matheus Moraes, Otávio Lancellotti, Samara Vieira, Taís Fraga, William Vaz.

Aos meus colegas de faculdade/estágio que se tornaram grandes e valiosos amigos, que fizeram esta jornada mais leve e prazerosa. Agradeço por cada palavra de apoio, por cada risada compartilhada, por cada momento juntos, especialmente nos churrascos veganos, mas principalmente por estarem sempre presentes em minha vida, mesmo nos momentos mais desafiadores. Vocês tornaram essa caminhada possível e muito mais especial do que eu poderia imaginar. Alícia, Brenda, Dianifer, Eduarda, Isabelle, Fausto, Flávia, Giovanna, Jara, Júlia, Larissa, Luiz Augusto, Luiz Edmundo, Karine, Karolini, Maike, Natália, Ryan, Sam, Tainara, Thaís, Vitória, Vítor.

Aos meus professores, que com sua dedicação e paciência, compartilharam seu conhecimento e me ajudaram a crescer academicamente e pessoalmente. Em especial, ao meu orientador, Dr. Tiago Gomes dos Santos, e coorientador, Dr. Moisés Escalona, por suas inúmeras orientações e apoio contínuo. A confiança e a perseverança de vocês em meu trabalho foram essenciais para que eu pudesse chegar até aqui. À Dra. Márcia Spies, que me acompanhou ao longo de toda a trajetória e junto com o Dr. Tiago Gomes dos Santos, aceitaram me acolher em seus

laboratórios no momento em que mais precisei, proporcionando-me novas possibilidades. Sempre fui fascinado/apaixonado pela zoologia, mas através das suas aulas, descobri um universo completamente novo e profundo sobre a vida dos animais. Suas aulas não apenas ampliaram meu conhecimento, mas também despertaram uma compreensão mais rica e detalhada das complexidades e maravilhas da Zoo.

À minha psicóloga, Felícia Valli, gostaria de expressar minha profunda gratidão por todo o apoio, cuidado e carinho dedicados à minha saúde mental. Agradeço por estar ao meu lado, oferecendo suporte incondicional e um espaço seguro para que eu pudesse explorar e compreender melhor a mim mesma.

Cada um de vocês teve um papel fundamental na realização deste trabalho e no alcance do sonho da graduação. A todos, meu muito obrigado, vocês têm um lugarzinho especial no meu coração. Amo vocês! 

RESUMO

Embora o número de estudos sobre o turno de vocalização de anuros tenha aumentado nos últimos anos, devido à maior acessibilidade dos pesquisadores ao método de Monitoramento Acústico Passivo (PAM), ainda existe carência desse tipo de informação para um grande número de espécies na região Neotropical. Assim, o presente estudo visou preencher as lacunas existentes sobre o turno de vocalização da *Phyllomedusa iheringii*, testando: i) a hipótese nula de distribuição circadiana uniforme na abundância de machos em atividades vocalização, bem como na emissão de cantos de anúncio e de cantos territoriais; ii) se há influência da temperatura do ar e/ou riqueza de espécies no coro reprodutivo sobre a variação nos seguintes parâmetros: abundância média de indivíduos vocalizando, número de cantos de anúncio e número de cantos territoriais emitidos. O turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* foi monitorado com uso de PAM durante seis meses em duas poças permanentes na região dos Campos Arbustivos do bioma Pampa brasileiro. Os três parâmetros avaliados para caracterizar o turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* apresentaram padrão circadiano concentrado no período noturno. Machos de *Phyllomedusa iheringii* emitiram cantos de anúncio principalmente no início e no final do período noturno. O canto territorial dessa espécie foi descrito pela primeira vez e foi emitido por quase todo o turno de vocalização, com pico na madrugada e final da noite. Quanto menor a temperatura do ar ao longo da noite, maior foi o número de cantos registrados em ambas as poças monitoradas. Quanto maior a riqueza de espécies com machos em atividade de vocalização, maior foi a abundância estimada de machos de *Phyllomedusa iheringii*, bem como maior o número de cantos territoriais emitidos ao longo da noite, em ambas as poças. Coros reprodutivos multi específicos podem aumentar a fonotaxia das fêmeas, diminuir o risco de predação ou ainda podem representar o efeito de variáveis que atuam sobre múltiplas espécies. O presente estudo traz dados inéditos sobre a biologia de uma espécie de anuro Neotropical endêmica do Pampa uruguaio-brasileiro e estimula novas questões para futuros estudos.

Palavras-Chave: atividade diária de vocalização, canto de anúncio, canto territorial, riqueza de espécies no coro, ciclo circadiano, monitoramento acústico passivo.

ABSTRACT

Despite the increasing number of studies on daily patterns of anuran in recent years, mainly due to greater accessibility to Passive Acoustic Monitoring (PAM) methods, there remains a lack of such information for many species, particularly in the Neotropical region. This study aimed to fill existing gaps in knowledge on the daily calling patterns of *Phyllomedusa iheringii*, testing: i) the null hypothesis of a uniformly distributed circadian abundance of males in calling activity, as well as in the emission of advertisement and territorial calls; ii) the influence of meteorological predictor (air temperature) and/or ecological predictor (species richness in the reproductive chorus) on variation in the following parameters: mean abundance of calling males, number of advertisement calls, and number of territorial calls emitted. The daily calling pattern of *Phyllomedusa iheringii* was monitored using PAM during six months at two permanent ponds in the Shrub Grasslands region of the Brazilian Pampa biome. The three parameters evaluated to characterize the daily calling patterns of *Phyllomedusa iheringii* showed a circadian pattern concentrated during the nighttime. Males of *Phyllomedusa iheringii* predominantly emitted advertisement calls at the beginning and end of the nighttime period. The territorial call of this species was described for the first time and it was emitted throughout most of the daily calling, peaking in during the dawn and late night. Lower air temperatures throughout the night correlated with a higher number of recorded calls in both monitored ponds. Higher species richness with calling males correlated with higher estimated abundance of male *Phyllomedusa iheringii* and increased number of territorial calls emitted throughout the night in both ponds. Multi-specific reproductive choruses may enhance female phonotaxis, reduce predation risk, or represent the effects of variables acting across multiple species. This study provides novel data on the biology of a Neotropical anuran species endemic to the Uruguayan-Brazilian Pampa and stimulates new questions for future research.

Keywords: daily vocalization activity, advertisement call, territorial call, species richness in chorus, circadian cycle, passive acoustic monitoring.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mapa da área de estudo, no município de São Sepé, Rio Grande do Sul, Brasil, América do Sul, mostrando a localização geográfica da Granja das Capelas (estrela verde acinzentada) onde duas poças foram monitoradas, de setembro de 2021 a fevereiro de 2022, quanto ao turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii*.....18

Figura 2: Locais de estudo P1 (a) e P2 (b), cada um com seu respectivo dispositivo de monitoramento (gravador e *datalogger*) (b e d) utilizado para monitorar o turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* em São Sepé, RS, de setembro de 2021 a fevereiro de 2022.....19

Figura 3: Espectrograma e oscilograma do canto de anúncio (a) e do canto territorial (b) de *Phyllomedusa iheringii*, ambos registrados em São Sepé, RS.....22

Figura 4: Diagramas de rosa representando parâmetros do turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii*: (a) número de cantos de anúncio emitidos, (b) número de cantos territoriais emitidos, (c) abundância média de machos em atividade de vocalização. Dados registrados em duas poças (P1 e P2) monitoradas mensalmente, de setembro de 2021 a fevereiro de 2022, em São Sepé, RS.....26

Figura 5: Gráficos de dispersão resultantes da análise de Regressão Linear Múltipla (Zar 1999) testando o papel de fator meteorológico (temperatura do ar) e ecológico (riqueza de espécies) sobre os parâmetros do turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* em duas poças (P1 e P2) monitoradas mensalmente, de setembro de 2021 a fevereiro de 2022, em São Sepé, RS. A abundância de machos vocalizando aumentou com a riqueza de outras espécies na poça P1 (a) e na P2 (c); o número de cantos territoriais na P1 aumentou com a riqueza de espécies, e com diminuição da temperatura (b); o número de cantos territoriais na P2 aumentou com a riqueza de espécies no coro (d).
.....28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Sumário da estatística circular para os parâmetros do turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* em duas poças (P1 e P2) mensalmente monitoradas, de setembro de 2021 a fevereiro de 2022, em São Sepé, RS. Os valores para cada parâmetro são apresentados, respectivamente, na ordem das poças P1 e P2 (P1/P2).

Teste	de	Rayleigh:	valores	significativos	=
p<0,05.....					29

Tabela 2. Sumário das análises de regressão múltipla, testando a significância preditiva de fator meteorológico (temperatura do ar) e ecológico (riqueza de espécies de anuros) sobre a variação circadiana de três parâmetros do turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* (abundância de machos vocalizando, número de cantos de anúncio, e número de cantos territoriais) monitorados mensalmente, de setembro de 2021 a fevereiro de 2022, em duas poças (P1 e P2) no município de São Sepé, RS. Quadrados médio (QM), estatística F (F), coeficientes parciais de regressão (b), R² ajustado (R² Aj). Significância estatística: * p< 0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.....30

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT	9
1. INTRODUÇÃO.....	13
1.1. OBJETIVO GERAL	15
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
1.3 HIPÓTESES	16
2. METODOLOGIA.....	17
2.1. ÁREA DE ESTUDO.....	17
2.2. AMOSTRAGEM	18
2.3. ANÁLISES ESTATÍSTICAS	23
3. RESULTADOS	25
4. DISCUSSÃO.....	31
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
6. REFERÊNCIAS	35
7. MATERIAL SUPLEMENTAR.....	40

1. INTRODUÇÃO

Anfíbios anuros apresentam enorme diversidade de modos e estratégias reprodutivas (Wells, 2007; Crump, 2017). Os padrões reprodutivos temporais são classificados quanto à variação anual e também quanto à variação circadiana ou diária. Ao longo do ano, espécies que apresentam atividade reprodutiva restrita a dias ou semanas são classificadas como reprodutores explosivos, enquanto aquelas cuja atividade dura vários meses são consideradas reprodutores prolongados, embora estes sejam extremos de um contínuo (Wells, 1977). Já quanto aos padrões diários, existem espécies cujas atividades reprodutivas, como a emissão da vocalização dos machos, ocorrem durante a fase diurna e noturna (e.g. Akmentins et al. 2015; Narvaes & Rodrigues, 2005), enquanto muitas espécies apresentam atividade vocal essencialmente noturna (e.g. Dias et al. 2017a; Duarte et al. 2019; Guerra et al. 2020), e outras tipicamente diurnas (e.g. Hatano et al. 2002; Caldart et al. 2016). No período de atividade vocal, os machos emitem cantos de anúncio para atrair as fêmeas coespecíficas e repelir machos competidores. Porém, em casos de espécies territoriais, os machos emitem outro tipo de canto, o canto territorial, para defender o território (Toledo et al., 2015).

Fatores ambientais meteorológicos têm sido comumente relacionados com os padrões de vocalização em escala diária, principalmente a chuva, a umidade do ar, a velocidade do vento, a luminosidade e a temperatura do ar ou da água (e.g. Hatano et al. 2002; Crump et al. 2017; Guerra et al. 2020). Tais fatores podem cumprir um importante papel como sinalizadores para ritmos circadianos endógenos nesse grupo de organismos ectotérmicos (Oishi et al. 2004). Estudos têm recuperado estes como bons preditores de parâmetros do turno de vocalização dos anuros, como a abundância de machos em atividade de vocalização, o número total de vocalizações emitidas ou ainda a taxa de emissão de vocalização por macho (e.g. Gerhardt & Huber, 2002; Hatano et al. 2002; Akmentins et al. 2023; Steen et al. 2013; Ximenez & Tozetti, 2015). Entretanto, fatores ecológicos também podem desempenhar papel importante para elucidar a variação na abundância de indivíduos em atividade reprodutiva ou ainda da emissão de vocalizações, como a configuração do ambiente e a estrutura dos habitats (cf. Semlitsch, 2000; Marsh & Trenham, 2001; Van Buskirk, 2005), o risco de predação (Ryan et al. 1982), a disponibilidade de recursos para

nidificação, a densidade de competidores (Woolbright et al., 1990; Lucas et al., 1996; Pröhl et al., 2002), densidade de fêmeas (ver referências em Wells, 2007; Crump et al. 2017) e até mesmo a riqueza de espécies de anuros em atividade reprodutiva simultânea (Wells, 1977).

Fatores ecológicos, como a variação na riqueza de outras espécies vocalizando no coro reprodutivo, podem estimular a competição acústica. Isso leva os machos a ajustarem suas vocalizações para se destacarem no coro (Gerhardt, 1995; Narins et al., 2003). Consequentemente, tanto a frequência quanto a intensidade das vocalizações dos machos podem aumentar, resultando em uma maior atividade reprodutiva dos anuros (Gerhardt & Huber, 2002; Wells, 2007). Além disso, os aspectos fisiológicos relacionados à vocalização dos anuros incluem um alto custo energético, que pode levar machos com reservas energéticas limitadas a adotar a estratégia de macho satélite para economizar energia. Os hormônios, como a testosterona e a corticosterona, desempenham um papel crucial na regulação da atividade vocal, influenciando a intensidade e frequência das vocalizações (Pombal Jr, 2005).

Embora o número de estudos sobre o turno de vocalização de anuros tenha aumentado nos últimos anos (Lukanov, 2023), em função da maior acessibilidade dos pesquisadores ao método de Monitoramento Acústico Passivo (PAM, *sensu* Sugai et al. 2019), ainda existe carência desse tipo de informação para um grande número de espécies na região Neotropical (mas veja exemplos recentes em Duarte et al. 2019; Guerra et al. 2020; Akmentins et al. 2023), que é considerada detentora de enorme diversidade de espécies (Vasconcelos et al. 2019). Esse déficit de informações da história natural das espécies pode limitar nossa compreensão sobre processos ecológicos e evolutivos, bem como dificultar a análise de padrões macroecológicos.

Os anuros da subfamília Phyllomedusinae, hílídeos com distribuição estritamente Neotropical (Frost, 2024), são exemplo de grupo de espécies cuja informação sobre turno de vocalização é escassa. Os filomedusídeos são predominantemente arborícolas e depositam seus ovos em folhas suspensas sobre a água (Haddad & Prado, 2005; Vitt & Caldwell, 2014). Dentre estes, *Phyllomedusa iheringii*, endêmica do bioma Pampa uruguaio-brasileiro (Maneyro & Carreira, 2012), é exemplo de espécie que apresenta comportamento reprodutivo do tipo prolongado (*sensu* Wells, 1977), cuja temporada reprodutiva se estende de setembro a fevereiro (Dias et al., 2017b). A *Phyllomedusa iheringii*, assim como outras espécies da

subfamília, adota um sistema de acasalamento conhecido como lek, onde os machos se exibem em arenas por vários meses, emitindo cantos de anúncio e cantos territoriais (Dias et al., 2017b). Entretanto, podem ocorrer mudanças dependentes de densidade no sistema de acasalamento dessa espécie. Assim, sob condições peculiares de alta densidade de machos em atividade reprodutiva, os indivíduos podem deixar os sítios de vocalização e procurar ativamente por fêmeas na vegetação (Dias et al., 2017b), iniciando comportamento de patrulha (*sensu* Wogel et al., 2005) que algumas vezes resulta em combate macho-macho e amplexo múltiplo (Oliveira et al. 2014a), comuns no sistema de competição embaralhada. O padrão circadiano no turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* permanece desconhecido, apesar de algumas informações disponíveis sobre a biologia reprodutiva dessa espécie (ver de Sá & Gerhau, 1983; Langone et al. 1985; Langone, 1993; Iop et al. 2015; Oliveira et al. 2014a; Dias et al., 2017b; Lima 2022).

O presente estudo visa preencher as lacunas existentes sobre o turno de vocalização da *Phyllomedusa iheringii*, testando: i) a hipótese nula de distribuição circadiana uniforme na abundância de machos em atividades vocalização, bem como na emissão de cantos de anúncio e de cantos territoriais; ii) se a temperatura do ar e/ou a riqueza de outras espécies de anuros no mesmo coro explica a variação no turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii*.

1.1. Objetivo Geral

Descrever o turno de vocalização da perereca *Phyllomedusa iheringii*, testando a influência de possíveis preditores meteorológicos e ecológicos sobre o padrão de atividade circadiana da espécie.

1.2 Objetivos específicos

- Descrever a variação circadiana na abundância de machos em atividade de vocalização;
- Descrever a variação circadiana no número de cantos de anúncio emitidos;
- Descrever a variação circadiana no número de cantos territoriais emitidos;
- Testar a influência da temperatura do ar e da riqueza de espécies de anuros sobre os parâmetros do turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii*

1.3 Hipóteses

A *Phyllomedusa iheringii* apresenta turno de vocalização concentrado no período noturno, assim como previamente reportado para *P. burmeisteri*, espécie filogeneticamente próxima (Abrunhosa & Wogel, 2004). Até o momento, as informações disponíveis indicam que os machos de *Phyllomedusa iheringii* iniciam a vocalização no período noturno (Dias et al. 2017b), mas o período de finalização diário dessa atividade não é conhecido.

Os machos emitem os cantos territoriais no início do turno de vocalização, que corresponde ao momento do estabelecimento dos sítios de vocalização, enquanto os cantos de anúncio serão emitidos após essa primeira etapa, como possível resposta à chegada das fêmeas ao longo da noite (Reichert 2010; Bastos et al. 2011; Dias et al. 2017a).

Os parâmetros do turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* são positivamente influenciados pela temperatura do ar e/ou pela riqueza de outras espécies de anuros em atividade de vocalização no ambiente de reprodução, porque: 1) abundância dos machos de *Phyllomedusa iheringii* em atividade reprodutiva é reconhecidamente associada com temperaturas elevadas ao longo do ano (Dias et al. 2017b), e assim o incremento desse fator meteorológico resultará em maior taxa de emissão de cantos, devido aos efeitos diretos da temperatura na atividade metabólica desse grupo de ectotérmicos (Bee, 2007); 2) fatores ecológicos, como a variação na riqueza de outras espécies vocalizando no coro reprodutivo, podem estimular a competição acústica. Isso leva os machos a ajustarem tanto a frequência dominante quanto a intensidade de suas vocalizações para se destacarem no coro (Gerhardt, 1995; Gerhardt & Huber, 2002; Narins et al., 2003; Wells, 2007). Eles ajustam suas vocalizações para se destacarem no coro, seja alterando a frequência dominante para atender às preferências das fêmeas, seja ajustando a estrutura temporal para garantir que seus chamados sejam mais detectáveis em um ambiente acústico complexo (Gerhardt, 1992; Narins et al., 2003). Consequentemente, tanto a frequência quanto a intensidade das vocalizações dos machos podem aumentar, resultando em uma maior atividade reprodutiva dos anuros (Gerhardt & Huber, 2002; Wells, 2007).

2. METODOLOGIA

2.1. Área de estudo

O presente estudo foi desenvolvido em uma propriedade particular (Granja das Capelas) no município de São Sepé, Rio Grande do Sul (Figura 1). Essa área está inserida na Serra do Sudeste do bioma Pampa e vem sendo estudada quanto a alguns aspectos da biologia reprodutiva de *Phyllomedusa iheringii* (Dias et al., 2017b; Oliveira et al., 2014a, Lima, 2022). A vegetação na área de estudo é caracterizada como um mosaico natural de campo nativo e manchas estrato arbóreo-arbustivo (Campo Arbustivo sensu Hasenack et al., 2023), campo em regeneração e matas ciliares (Dias et al., 2017b). O clima regional é temperado, com verões quentes, sem estação seca definida (Cfa de Köppen-Geiger) (Peel et al., 2007). Entretanto, as elevadas temperaturas de verão implicam em altas taxas de evaporação que podem ocasionar déficit hídrico superficial. De forma geral, a sazonalidade climática da região é regida pela variação circanual na temperatura e no fotoperíodo, que estabelece um período frio e dias curtos (outono-inverno) e um período quente, com dias longos (primavera-verão). A variação na amplitude térmica diária é acentuada no Pampa, devido à vegetação predominantemente campestre, que limita a estabilidade microclimática (Santos, 2022).

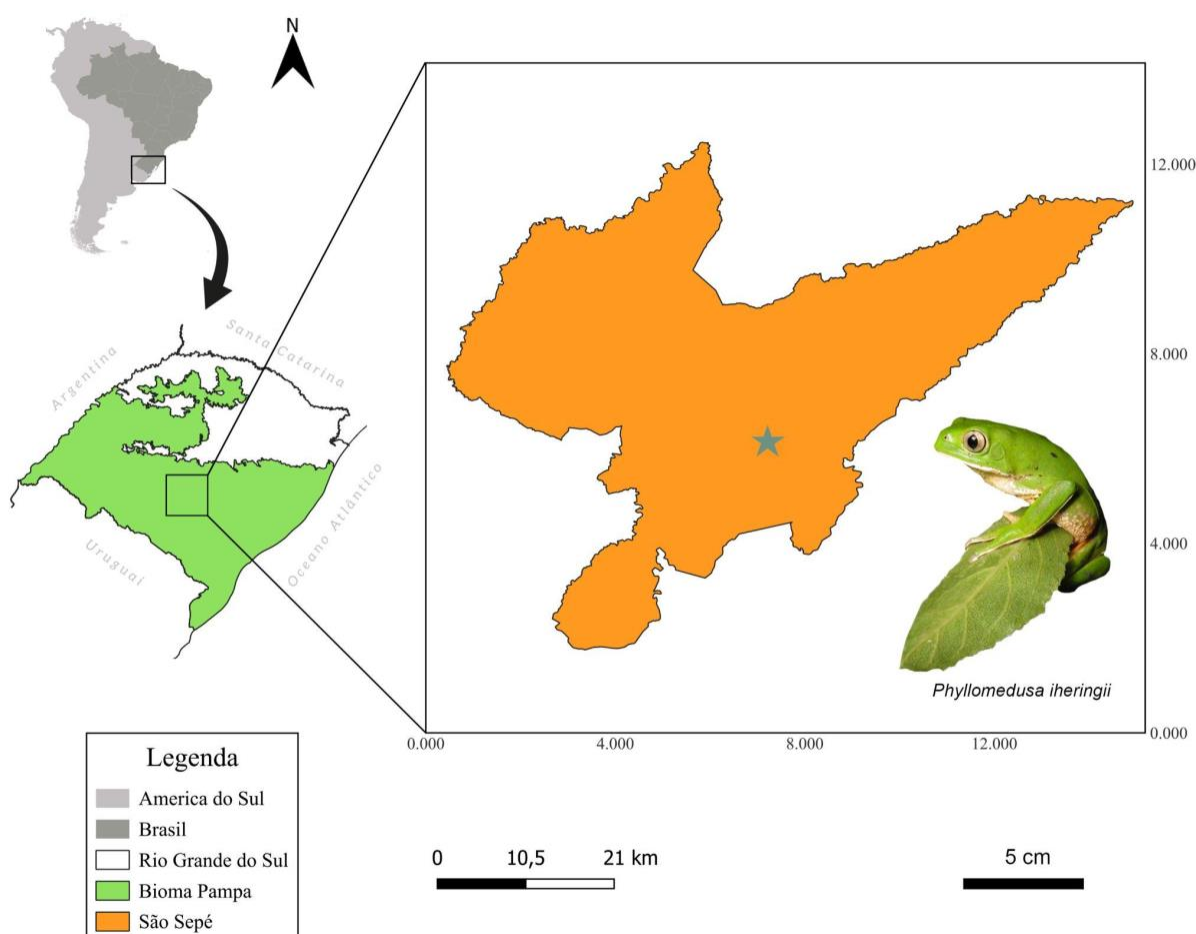


Figura 1: Mapa da área de estudo, no município de São Sepé, Rio Grande do Sul, Brasil, América do Sul, mostrando a localização geográfica da Granja das Capelas (estrela verde acinzentada) onde duas poças foram monitoradas, de setembro de 2021 a fevereiro de 2022, quanto ao turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii*.

2.2. Amostragem

Durante o período de setembro de 2021 a fevereiro de 2022, meses que correspondem à temporada reprodutiva da espécie na área de estudo (Dias et al. 2017b), foram realizadas amostragens mensais em duas poças permanentes (P1 e P2) separadas por 500m de distância. As poças selecionadas, de acordo com estudo prévio, concentram alta abundância de *Phyllomedusa iheringii* e foram previamente denominadas P1 e P5 em Lima (2022) (Figura 2). A profundidade das poças P1 e P2 é de 1,50 m e 1,70 m, enquanto a área total do espelho d'água é de 88 m² e 170 m², respectivamente. A cobertura vegetal, considerando *buffer* de 50m (imagens disponíveis no Google Earth), é caracterizada na P1 por campo enxuto (66%),

vegetação arbóreo-arbustiva (21%) e campo úmido (13%), enquanto na P2 é caracterizada por campo enxuto (60%), campo úmido (31%), vegetação arbóreo-arbustiva (7%) e sem vegetação (2%) (Lima 2022).

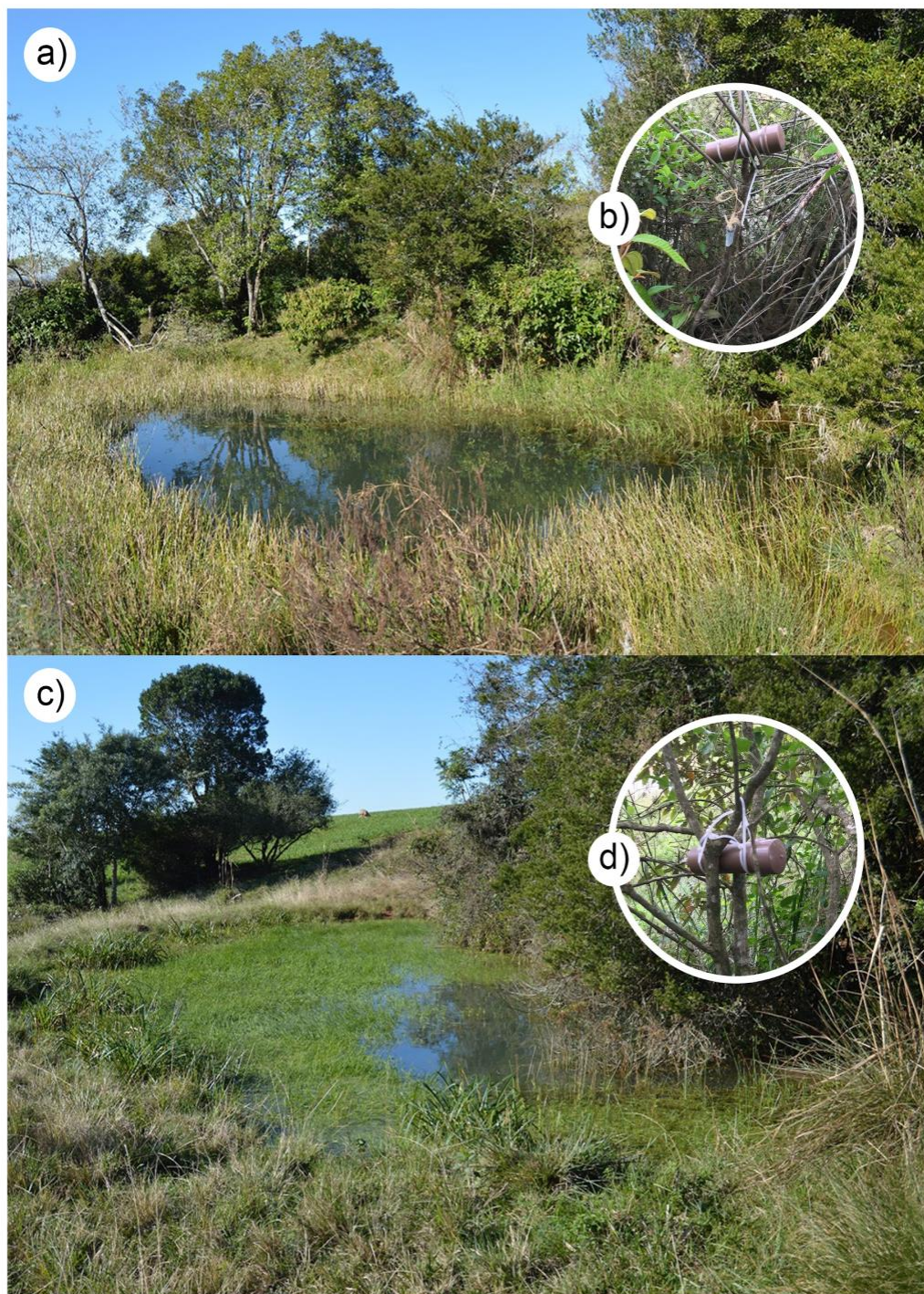


Figura 2: Locais de estudo P1 (a) e P2 (b), cada um com seu respectivo dispositivo de monitoramento (gravador e *datalogger*) (b e d) utilizado para monitorar o turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* em São Sepé, RS, de setembro de 2021 a fevereiro de 2022. Fotos: Tiago Gomes dos Santos.

O método de Monitoramento Acústico Passivo (PAM, *sensu* Sugai et al. 2019), adaptado de Acevedo & Villanueva-Rivera (2006) conforme Madalozzo et al. (2017), foi utilizado para registrar informações sobre o turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii*. Na margem de cada poça, foi instalado um gravador Sony ICD-PX470, inserido em tubo de PVC preso à vegetação, cerca de 1,50 m de altura do solo (ver Figura 2 e detalhes em Madalozzo et al. 2017). Os gravadores permaneceram simultaneamente ligados em cada mês/poça em torno de 19h (*por exemplo*: 19h às 14h), durante um dia por mês, durante os seis meses de monitoramento. Os gravadores foram programados com frequência de amostragem de 44 KHz, resolução de 16 bits e possuíam microfone embutido. As gravações foram realizadas em formato comprimido (mp3) e posteriormente transformadas em formato não comprimido (WAV), usando o programa Audacity versão 3.5.1 (Audacity Team, 2023). Tal transformação é necessária para as análises posteriores realizadas no programa Raven Pro[®] 1.6.5 (Cornell Lab of Ornithology, Ithaca, Nova York, EUA), conforme detalhado a seguir. Esse método de amostragem tem sido recomendado para estudos de anfíbios anuros em ecossistemas campestres subtropicais (Madalozzo et al. 2017) e possui vantagens como registro contínuo sem interferência humana, bem como a detecção de espécies com atividade de vocalização esporádica, de comportamento arredio ou ainda que podem vocalizar durante o dia ou tarde da noite (Bridges & Dorcas 2000, Haselmayer & Quinn 2000). Simultaneamente, foram instalados *dataloggers* HOBO UA-002-08 com os gravadores para registrar a temperatura do ar a cada 30 minutos.

As amostras dos arquivos de áudios originais foram ouvidas em intervalos fixos. Para tanto, foram recortados no programa Audacity segmentos de áudio dos primeiros cinco minutos de cada sessão de 30 minutos dos arquivos originais. A soma desses recortes totalizou 190 minutos (ou 3,16 horas) de gravação por poça/mês, resultando em um total de aproximadamente seis horas de gravação por poça. Na sequência, utilizamos o programa Raven Pro[®] para inspecionar cada trecho de cinco minutos de áudio (formato WAV não comprimido), registrando: a) a estimativa de abundância de machos de *Phyllomedusa iheringii* em atividade de vocalização, b) o número de cantos de anúncio emitidos, c) o número de cantos territoriais emitidos, d) a riqueza de anuros em atividade de vocalização nas poças e, e) os seguintes parâmetros dos cantos: pico de frequência, duração, amplitude e intervalos entre cantos. Assim, foram construídos

espectrogramas e oscilogramas dos cantos de anúncio e territorial no programa R (R Core Team 2023), utilizando o pacote 'seewave' (Sueur et al. 2008).

As definições dos cantos analisados seguiram Toledo et al. (2015): i) canto de anúncio - aquele emitido durante a estação reprodutiva, para atração de fêmeas ou ainda para atrair machos ao coro mas segregá-los a curtas distância; ii) canto territorial - aquele emitido durante a defesa de um território, na presença ou ausência de outros machos. A identificação do canto de anúncio de *Phyllomedusa iheringii* seguiu as informações disponíveis em Forti et al. (2019). O canto territorial dessa espécie, apesar de ainda não formalmente descrito, difere do canto de anúncio (Figura 3 e Material Suplementar) principalmente devido aos seguintes parâmetros: número de notas (menor no canto de anúncio), intervalo entre notas (menor no canto de anúncio), duração do canto (menor no canto de anúncio) e largura de banda (maior no canto de anúncio).

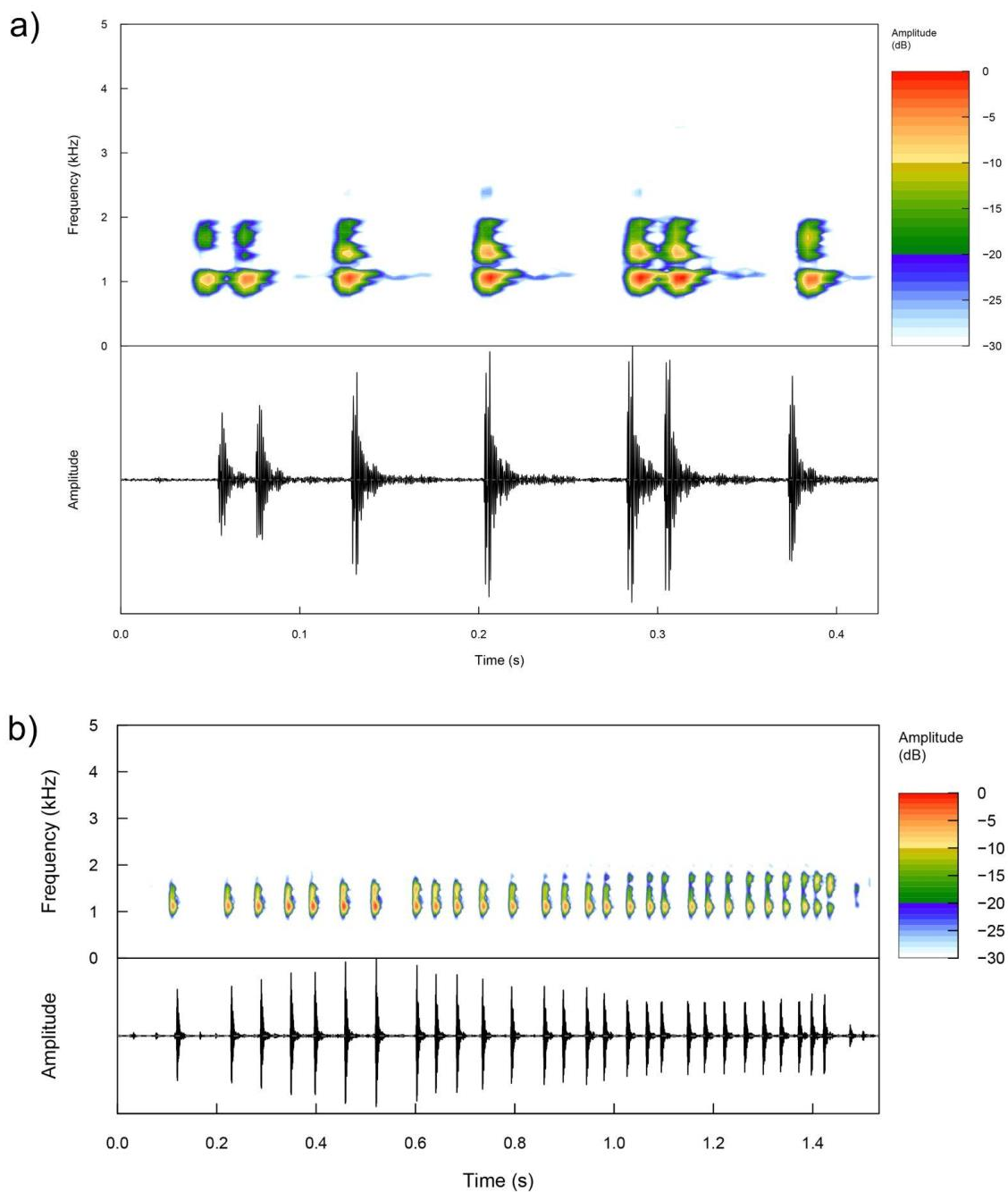


Figura 3: Espectrograma e oscilograma do canto de anúncio (a) e do canto territorial (b) de *Phyllomedusa iheringii*, ambos registrados em São Sepé, RS.

A abundância de machos de *Phyllomedusa iheringii* em atividade de vocalização foi estimada para cada trecho analisado, considerando a assincronia das vocalizações, associada com diferenças nas frequências dos cantos. Para tanto, foram utilizados os parâmetros de frequência dominante e de duração das notas

detectadas nos espectrogramas das gravações dos cantos obtidos nos períodos de maior atividade vocal. Assim, através da análise dos espectrogramas, foi possível detectar as características específicas de cada canto, permitindo a contagem confiável do número mínimo de machos por local. Essa metodologia inclui a avaliação da assincronia das vocalizações, um comportamento que os machos adotam para evitar sobreposição de cantos, o que facilita a distinção individual e a estimativa precisa da abundância populacional em estudos de ecologia e comportamento de anuros (Wells 2007). Tal procedimento é detalhado em Crovetto et al. (2019) e Ceirãs et al. (2020). A identificação das demais espécies de anuros presentes nas poças foi realizada com base nas informações prévias sobre as comunidades locais de anuros (Santos & Cechin 2008; Santos et al. 2011; Oliveira 2014b; Iop et al. 2015), estudadas durante as últimas décadas.

Os dados de abundância de machos em atividade de vocalização, o número de cantos de anúncio emitidos e o número de cantos territoriais emitidos, bem como a riqueza de anuros vocalizando e da temperatura do ar (°C), foram organizados em planilhas representando intervalos de um ciclo diário de 24h, dividido em uma escala de 30 minutos (e.g. 00:00, 00:30, 01:00, 01:30... até 23:30 h). Nesse caso, os valores de abundância de machos em atividade de vocalização representam a média das estimativas produzidas dentro de cada intervalo de 30 minutos, entre diferentes meses (setembro a fevereiro), de forma a evitar a superestimativa de abundância devido à recontagem de indivíduos em meses subsequentes.

2.3. Análises estatísticas

A estatística circular foi utilizada para descrever, em cada poça monitorada, o perfil circadiano dos parâmetros que caracterizam o turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* (i.e. a abundância de machos em atividade de vocalização, o número de cantos de anúncio emitidos e o número de cantos territoriais emitidos). Assim, para cada parâmetro foram calculados: ângulo médio (μ , que representa o horário médio do ciclo circadiano no qual houve um maior valor de cada parâmetro analisado), o erro padrão associado ao ângulo médio, e o comprimento do vetor médio (r , uma medida de concentração dos dados ao redor do ciclo analisado, que varia de 0 a 1). Adicionalmente, foi empregado o teste de uniformidade de Rayleigh para testar

a hipótese nula de atividade circadiana homogênea (i.e. turno de vocalização homogeneamente distribuído no ciclo de 24h) contra a hipótese alternativa de distribuição circadiana concentrada (i.e., turno de vocalização concentrado em determinado período do ciclo de 24h). Um resultado significativo do teste de Rayleigh ($p < 0,05$) indica que os dados não são uniformemente distribuídos e há um ângulo médio (i.e. horário) preferido (Kovach Computing Services 2004). Cada parâmetro relacionado ao turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* foi representado em diagrama de rosa, com o respectivo comprimento do vetor médio. Todas as análises e gráficos da estatística circular foram realizados no programa Oriana 4.0 (Kovach Computing Services, 2004).

Na sequência, foi utilizada correlação de Spearman (r_s) para testar se o número de cantos de anúncio e de cantos territoriais foi correlacionado com a abundância de machos de *Phyllomedusa iheringii* nas poças monitoradas. Ademais, foi utilizada Regressão Linear Múltipla (Zar 1999) para testar se as variáveis temperatura do ar e riqueza de anuros vocalizando são preditores da variação circadiana nos parâmetros do turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii*. Para essa análise, os dados de estimativa de abundância e número de cantos emitidos (anúncio e territorial) representaram os valores brutos registrados em cada trecho de cinco minutos de áudio analisados. As análises de regressão foram realizadas no programa Statistica 10 (Statsoft 1984-2011).

3. RESULTADOS

Os três parâmetros avaliados para caracterizar o turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* (i.e. abundância média de indivíduos vocalizando, número de cantos de anúncio e número de cantos territoriais emitidos) apresentaram distribuição concentrada no período noturno ($p < 0,01$ para os testes de Rayleigh) em ambas as poças monitoradas (Tabela 1). Na de escala que varia de 0 (concentração nula) a 1 (concentração máxima), o comprimento do vetor médio resultou em valores maiores que 0,70 para 83% dos parâmetros relacionados ao turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* nas poças P1 e P2 (Tabela 1).

A abundância média de machos de *Phyllomedusa iheringii* em atividade de vocalização variou de um até aproximadamente 12 indivíduos ao longo dos turnos monitorados na P1. Já na P2, a abundância média de machos variou de três até aproximadamente 20 indivíduos. Os machos vocalizando foram encontrados das 19:07h até às 05:22h na P1 e, das 19:10h até 06:52h na P2, respectivamente (Figura 4f). Ocorreram quatro picos de abundância de machos de *Phyllomedusa iheringii* em atividade de vocalização na P1 (ao redor das 20:30-21:30h, 22:30h, 00:00h e 02:00h), enquanto na P2 ocorreram três picos: das 21:30-22:30h, 00:30-01:30h e das 06:00-06:30h.

Os cantos de anúncio de *Phyllomedusa iheringii* foram emitidos em dois períodos distintos na P1, o primeiro no início da noite, das 19:07 h às 21:37 h, e o segundo de madrugada, das 04:00h às 05:30h. Alguns cantos de anúncio esporádicos foram registrados entre os dois picos (e.g. 00:00, 01:30, e 03:30h (Figura 4a). Na P2, os cantos de anúncio de *Phyllomedusa iheringii* iniciaram às 19:10h e foram emitidos em quatro períodos distintos ao longo da noite (19:30-20:30, 21:30-22:00, 01:30-02:00 e 03:00-03:30h), e alguns cantos de anúncio esporádicos também foram registrados entre esses períodos (Figura 4d). O número de cantos de anúncio emitidos não apresentou correlação com a abundância de machos de *Phyllomedusa iheringii* estimada na P1 ($p > 0,05$). Essa análise não foi realizada na P2 devido a falta de registros de temperatura nos horários analisados.

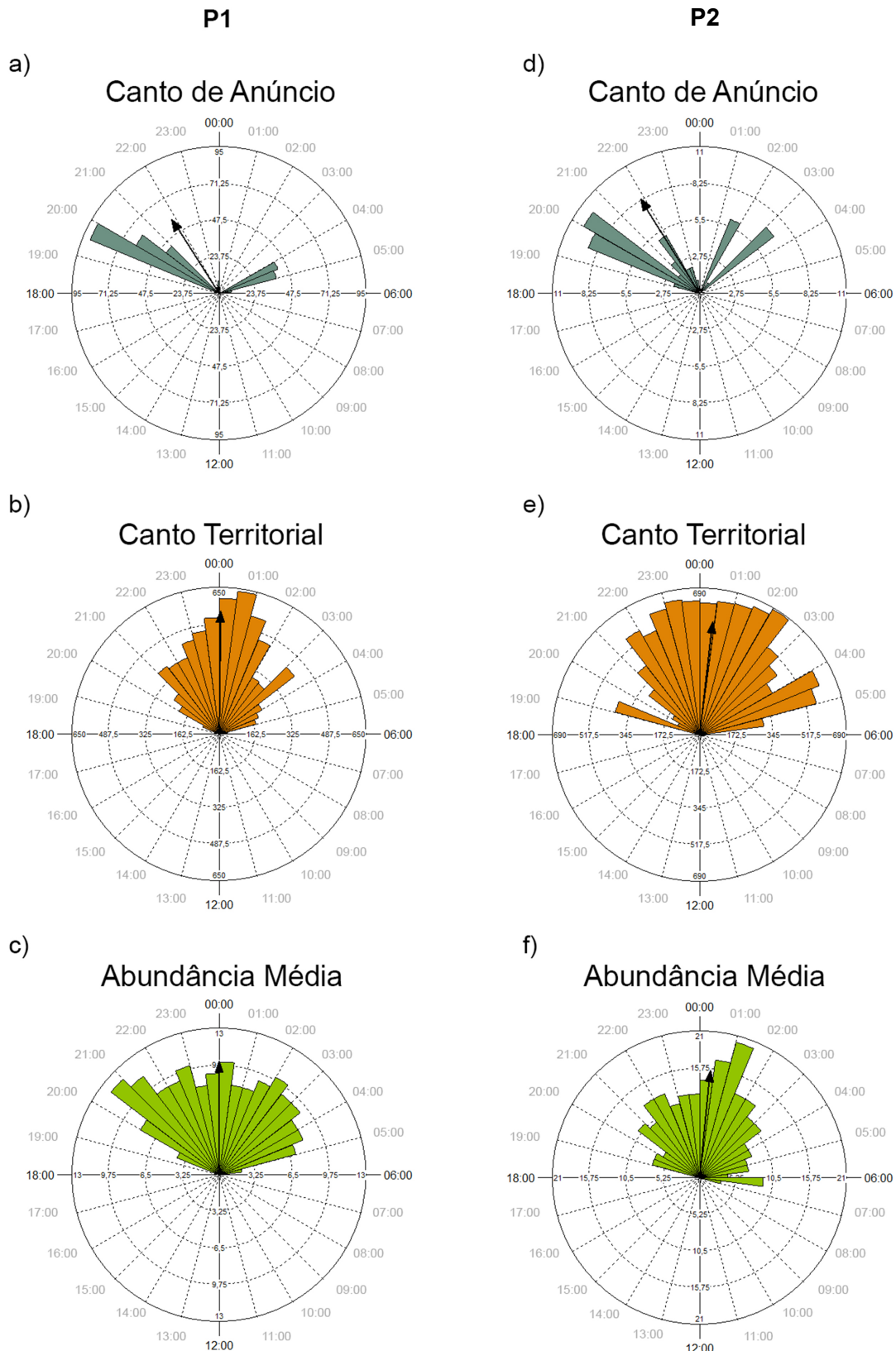


Figura 4: Diagramas de rosa representando parâmetros do turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii*: (a e d) número de cantos de anúncio emitidos, (b e e) número de cantos territoriais emitidos, (c e f) abundância média de machos em atividade de

vocalização. Dados registrados em duas poças (P1 e P2) monitoradas mensalmente, de setembro de 2021 a fevereiro de 2022, em São Sepé, RS.

Os cantos territoriais de *Phyllomedusa iheringii* foram emitidos das 19:30h às 05:22 h (P1) e das 19:22h às 06:52h (P2), respectivamente (Figura 4b e 4e). Um pico de emissão dos cantos territoriais na P1 ocorreu entre 00:00-01:00h da madrugada, e um segundo pico foi registrado entre 03:00-03:30h. Na P2, três picos de emissão de cantos territoriais foram registrados: 19:00-19:30h, das 21:30-03:00h e das 04:00-05:00h (Figura 4e). O número de cantos territoriais emitidos apresentou correlação com a abundância de machos de *Phyllomedusa iheringii* estimada nas poças P1 ($r_s=0,62$ e $p<0,05$) e P2 ($r_s= 0,76$ e $p<0,05$).

A abundância de machos de *Phyllomedusa iheringii* em atividade de vocalização aumentou em função do incremento na riqueza de outras espécies vocalizando em ambas as poças (P1: R^2 ajustado = 29%; P2: R^2 ajustado = 26%). O número de cantos de anúncio emitidos na P1 aumentou em função do decréscimo na riqueza de espécies naquela poça (R^2 ajustado = 7%). O número de cantos territoriais emitidos aumentou em função do incremento na riqueza de espécies vocalizando e do decréscimo da temperatura do ar em ambas as poças monitoradas (P1: R^2 ajustado = 37%; P2: R^2 ajustado = 53%) (Tabela 2 e Figura 5).

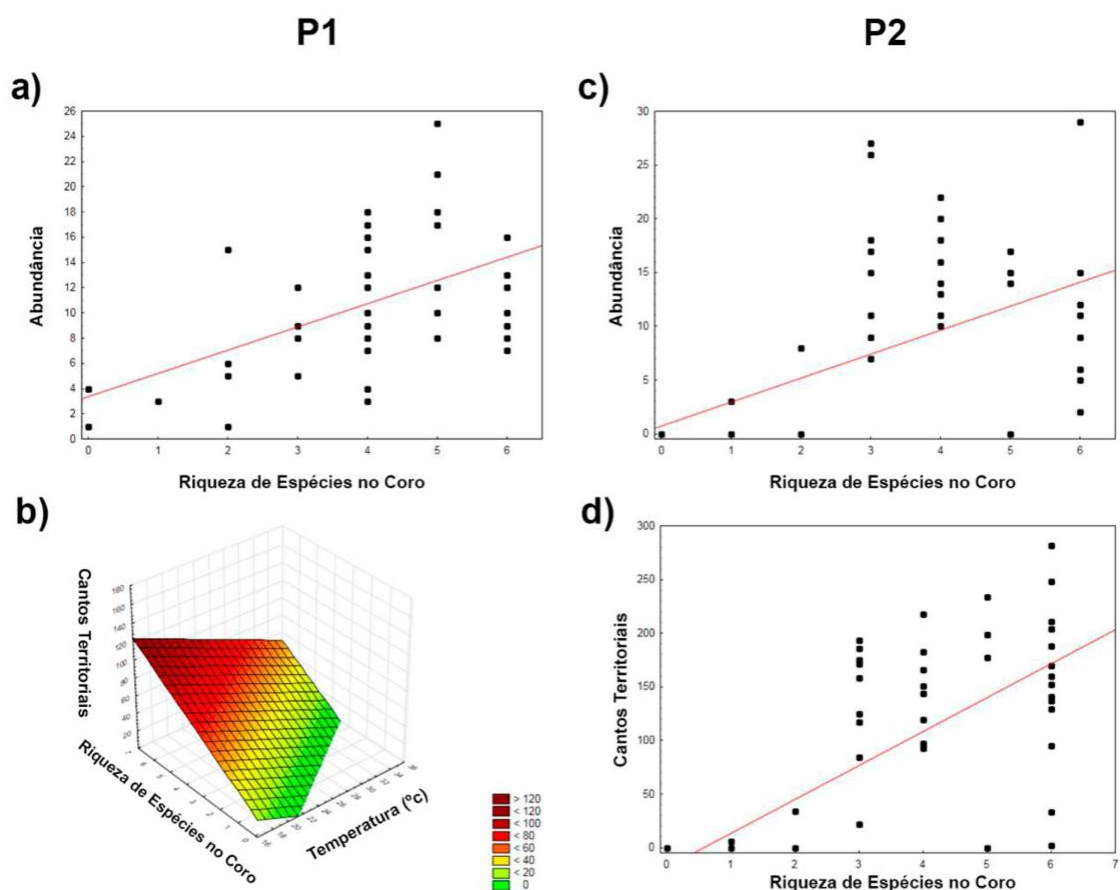


Figura 5: Gráficos de dispersão e superfície resultantes da análise de Regressão Linear Múltipla testando o papel de fator meteorológico (temperatura do ar) e ecológico (riqueza de espécies) sobre os parâmetros do turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* em duas poças (P1 e P2) monitoradas mensalmente, de setembro de 2021 a fevereiro de 2022, em São Sepé, RS. A abundância de machos vocalizando aumentou com a riqueza de outras espécies na poça P1 (a) e na P2 (c); o número de cantos territoriais na P1 aumentou com a riqueza de espécies, e com diminuição da temperatura (b); o número de cantos territoriais na P2 aumentou com a riqueza de espécies no coro (d).

Tabela 1: Sumário da estatística circular para os parâmetros do turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* em duas poças (P1 e P2) mensalmente monitoradas, de setembro de 2021 a fevereiro de 2022, em São Sepé, RS. Os valores para cada parâmetro são apresentados, respectivamente, na ordem das poças P1 e P2 (P1/P2).

P1/P2	Abundância média	Cantos de anúncio	Cantos territoriais
Número de observações	168-247	311-50	6.882-10.456
Vetor médio (μ)	00:00-00:23	21:49-21:53	00:02-00:26
Comprimento do vetor médio (r)	0,77-0,73	0,59-0,76	0,84-0,77
Erro padrão (vetor médio)	00:12-00:11	00:13-00:24	00:01-00:01
Teste de Rayleigh (Z)	100,04-132,41	108,98-28,47	4.814,708- 6.258,62
Teste de Rayleigh (p)	<0,001	<0,001	<0,001

Teste de Rayleigh: valores significativos = $p < 0,05$.

Tabela 2. Sumário das análises de regressão múltipla, testando a significância preditiva de fator meteorológico (temperatura do ar) e ecológico (riqueza de espécies de anuros) sobre a variação circadiana de três parâmetros do turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* (abundância de machos vocalizando, número de cantos de anúncio, e número de cantos territoriais) monitorados mensalmente, de setembro de 2021 a fevereiro de 2022, em duas poças (P1 e P2) no município de São Sepé, RS. Quadrados médio (QM), estatística F (F), coeficientes parciais de regressão (b), R²

Variável dependente	Poça	Efeito	QM	F	b	R ² Aj
Abundância	P1	Intercepto	120,17	6,79*		
		Temperatura	66,74	3,77		
		Riqueza spp	433,06	20,96***	0,55	
		Modelo	228	12,87***		0,29
	P2	Intercepto	0,22	0,004		
		Temperatura	1,07	0,02		
		Riqueza spp	930,3	18,77***	0,54	
		Modelo	597	12,05***		0,26
Cantos de anúncio	P1	Intercepto	145,94	2,99		
		Temperatura	16,18	0,33		
		Riqueza spp	286,1	5,88*	-0,31	
		Modelo	167,05	3,43*		0,07
Cantos territoriais	P1	Intercepto	6,46	8,24**		
		Temperatura	7,4	9,44**	-0,32	
		Riqueza spp	24,72	31,52***	0,59	
		Modelo	784,23	18,11***		0,37
	P2	Intercepto	6,94	1,96		
		Temperatura	9,83	2,78		
		Riqueza spp	142,8	40,37***	0,64	
		Modelo	126	35,62***		0,53

ajustado (R² Aj). Significância estatística: * p< 0,05, ** p<0,01, *** p<0,001.

4. DISCUSSÃO

O presente estudo descreveu o turno de vocalização da perereca *Phyllomedusa iheringii*, testando a influência de preditor meteorológico e ecológico sobre o padrão de atividade circadiana da espécie. *Phyllomedusa iheringii* apresentou os três parâmetros do turno de vocalização (i.e. a abundância média de indivíduos vocalizando, o número de cantos de anúncio e de cantos territoriais emitidos) concentrados no período noturno, em ambas as poças monitoradas. Esses resultados corroboraram as hipóteses iniciais de que a espécie teria padrão circanual concentrado e noturno, semelhante ao reportado para outros filomedusídeos, como *P. burmeisteri* (Abrunhosa & Wogel, 2004) e *Pithecopus rusticus* (De Bastiani et al. 2024). De fato, esse é o padrão mais comum entre anfíbios anuros (Duarte et al. 2019; Guerra et al. 2020), dado que machos vocalizando durante o dia e noite são esperados apenas para regiões climaticamente muito estáveis, como florestas tropicais quentes e úmidas (Akmentins et al. 2015), enquanto a atividade diurna é associada a espécies com sinalização visual e reprodução em riachos (Caldart et al. 2016).

Machos de *Phyllomedusa iheringii* emitiram cantos de anúncio principalmente no início e no final do período noturno. Esse padrão bimodal parece refletir as observações naturalísticas descritas em Dias et al. (2017), onde machos podem voltar a emitir canto de anúncio imediatamente após a fecundação de desova. Ou seja, os machos podem se engajar em mais de um evento reprodutivo ao longo da noite. Além disso, machos de *Phyllomedusa iheringii* podem, ao longo da noite, mudar a estratégia reprodutiva buscando por fêmeas, o que envolve deslocamentos na vegetação, vocalizações (cantos de anúncio e territoriais) e até mesmo disputas físicas (Dias et al. (2017).

Os cantos territoriais foram emitidos por quase todo o turno de vocalização, com pico na madrugada e final da noite. Esse padrão refutou a hipótese de que os cantos territoriais seriam emitidos no início da noite (momento do estabelecimento dos sítios de vocalização e do distanciamento espacial entre os indivíduos), enquanto os cantos de anúncio seriam emitidos posteriormente, como resposta à chegada das fêmeas (Reichert 2010; Bastos et al. 2011; Dias et al. 2017a). É preciso considerar que o canto de anúncio, em outras espécies, não serve apenas para atração das fêmeas, mas também para delimitar o território (Toledo et al. 2015). De acordo com Reichert (2010) alguns machos inclusive podem ser mais tolerantes, em termos da

agressividade, aos cantos de anúncio dos vizinhos do que ao canto territorial, o qual pode ser emitido depois quando exista um maior número de machos na poça. A interpretação de um padrão inverso ao recorrentemente reportado na literatura é um desafio, mas algumas hipóteses podem ser levantadas para incentivar futuras investigações: 1) talvez a demarcação dos sítios de vocalização e o espaçamento dos machos de *Phyllomedusa iheringii* nas poças de fato ocorram como o esperado, no início da noite, mas sejam organizados pelo canto de anúncio; de fato, o canto de anúncio não possui como única função a atração das fêmeas, mas também pode atuar para atração de machos distantes para se juntarem ao coro, mas auxiliar no espaçamento deles em curtas distâncias, anunciando a posição de cada macho para os vizinhos próximos (Toledo & Haddad 2005); 2) o grande número de cantos territoriais, emitidos por longos períodos, sugere estes como um elemento comum e importante na ecologia de espécies como *Phyllomedusa iheringii*, cujos machos frequentemente se engajam em disputas físicas por territórios, pelo acesso às fêmeas e em amplexos múltiplos (Oliveira et al. 2014a; Dias et al. 2017b); 3) o contexto social da emissão de alguns tipos de canto pode ser complexo e variável, o que dificulta a interpretação de sua função (ver exemplo para *Pithecopus nordestinus* em Toledo et al. 2015); o contexto social da emissão dos cantos aqui descritos como territoriais deveria ser melhor investigado, para uma compreensão mais acurada de sua função.

A hipótese de que os parâmetros do turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* seriam explicados por fator meteorológico e/ou ecológico foi corroborada nas análises que apontaram a temperatura e a riqueza de espécies no coro como preditores significativos. A temperatura do ar influenciou o número de cantos territoriais emitidos, já que seu decréscimo implicou em maior número de cantos registrados em ambas as poças monitoradas. Esse resultado foi oposto ao esperado (i.e. de influência positiva sobre os parâmetros do turno de vocalização, sensu Bee, 2007). Entretanto, resultados similares ao presente estudo foram encontrados em monitoramento de turno de vocalização em comunidades de anuros no Cerrado e no litoral do Pampa, onde a abundância e a frequência de ocorrência de machos em atividades de vocalização foram associados, respectivamente, com o período de menores temperaturas do ar ao longo da noite (Guerra et al. 2020; Santos et al. 2020). Segundo os autores, após o crepúsculo a temperatura do ar diminui enquanto a umidade relativa do ar aumenta, tornando o período noturno o mais adequado para a atividade de animais ectotérmicos de pele permeável, como os anfíbios anuros.

A riqueza de espécies com machos em atividade de vocalização foi positivamente relacionada com a abundância estimada de machos de *Phyllomedusa iheringii*, bem como com o número de cantos territoriais emitidos ao longo da noite, em ambas as poças. Na P1, especificamente, houve diminuição significativa do número de cantos de anúncio emitidos machos de *Phyllomedusa iheringii* conforme a riqueza de espécies aumentava. Algumas hipóteses independentes podem estar relacionadas com a influência positiva da riqueza das espécies em atividade nas poças e o incremento na abundância de machos de *Phyllomedusa iheringii* registrado no presente estudo. Conforme revisão apresentada em Wells (2007), grupos de espécies vocalizando simultaneamente podem: 1) diminuir o risco de predação por confundir os predadores e fazer os anuros mais difíceis de serem encontrados; 2) aumentar a fonotaxia das fêmeas, que em algumas circunstâncias podem se orientar em direção a coros multi específicos, principalmente se os machos coespecíficos forem escassos; 3) podem ser resultado do efeito de alguns fatores ambientais (e.g. temperatura, chuva, umidade, velocidade do vento e intensidade luminosa) que atuam sobre os indivíduos de múltiplas espécies.

No presente, não é possível excluir qualquer uma das hipóteses acima citadas. Entretanto, o número de cantos territoriais emitidos em ambas as poças foi positivamente relacionado com a abundância de machos estimada. Isso sugere que a chegada dos machos nas poças não é restrita ao período inicial da noite, o que pode explicar a necessidade de constante emissão de cantos territoriais, em um cenário de sítios de vocalização sob a constante ameaça pela chegada de novos competidores. Ademais, a chegada das fêmeas de *Phyllomedusa iheringii* nas poças parece ocorrer ao longo da noite (TGS, obs pes.), o que pode acentuar a disputa entre os machos em crescente abundância. A umidade do ar não foi medida no presente estudo, mas de fato esse pode ser um fator chave, cujo aumento ao longo da noite é reportado na literatura (Guerra et al. 2020; Santos et al. 2020) e poderia explicar o padrão geral de aumento da atividade reprodutiva dos anuros ao longo do período noturno, em um processo de covariação positiva, o que inclui os machos de *Phyllomedusa iheringii*. Por fim, a relação negativa detectada entre número de cantos de anúncio de *Phyllomedusa iheringii* e a riqueza de espécies na P1 também reforça a noção de que os machos dessa espécie emitem esse tipo de canto no início da noite, quando a riqueza de outras espécies no coro reprodutivo é baixa.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo sobre o turno de vocalização de *Phyllomedusa iheringii* representa um avanço significativo, particularmente na compreensão das complexas interações entre fatores ambientais e ecológicos que moldam o comportamento vocal dos anuros. Destaca-se a descrição do canto territorial dessa espécie bem como a abordagem utilizada, que decompôs o turno de vocalização, explorando não apenas a variação circadiana na abundância de machos em atividade vocal, mas na emissão dos cantos de anúncio e dos cantos territoriais. A observação de que a riqueza de outras espécies de anuros influenciou positivamente a atividade vocal dos machos de *Phyllomedusa iheringii* sugere adaptações comportamentais evolutivas para otimizar a comunicação e a reprodução em um ambiente competitivo, mas a função de variáveis latentes, como a umidade do ar, não pode ser descartada. Como sugestão, futuras pesquisas devem explorar a função de outros fatores meteorológicos (e.g., umidade do ar, a luminosidade e a velocidade do vento), sobre os parâmetros do turno de vocalização. Ademais, sugere-se que o contexto social dos cantos aqui descritos como territoriais seja investigado à luz da dinâmica de chegada de machos e fêmeas de *Phyllomedusa iheringii* aos ambientes de reprodução ao longo da noite.

6. REFERÊNCIAS

- Abrunhosa, P.A.; Wogel, H. 2004. Breeding behavior of the leaf-frog *Phyllomedusa burmeisteri* (Anura: Hylidae). **Amphibia Reptilia** 25:125-135.
- Akmentins, M.S.; Pereyra, L.C.; Sanabria, E.A.; Vaira, M. 2015. Patterns of daily and seasonal calling activity of a direct-developing frog of the subtropical Andean forests of Argentina. **Bioacoustics** 24:89-99.
- Akmentins, M.S.; Boullhese, M.; Vaira, M.; Pereyra, L.C. 2023. Vocalization behavior and calling phenology in two direct-developing frogs of the genus *Oreobates* of Yungas Andean forests in northwest Argentina. **Herpetological Conservation and Biology** 18:315-325.
- Bastos, R.P.; Alcantara M.B.; Morais, A.R.; Lignau, R.; Signorelli, L. 2011. Vocal behaviour and conspecific call response in *Scinax centralis* (Anura: Hylidae). **Journal of Herpetology** 21:43-50.
- Bee, M. 2007. Selective phonotaxis by male wood frogs (*Rana sylvatica*) to the sound of a chorus. **Behavioral Ecology and Sociobiology** 61(6):955-966.
- Bridges, A.S.; Dorcas, M.E. 2000. Temporal variation in anuran calling behavior: implications for surveys and monitoring programs. **Copeia** 2000(2):587-592.
- Caldart, M.; Iop, S.; Lignau, R. 2016. Calling activity of a stream-breeding frog from the austral neotropics: temporal patterns of activity and the role of environmental factors. **Herpetologica** 72(2):90-97.
- Čeirāns, A.; Pupina, A.; Pupins, M. 2020. A new method for the estimation of minimum adult frog density from a large-scale audial survey. **Scientific Reports** 10:8627.
- Crovetto, F.; Salvidio, S.; Costa, A. 2019. Estimating abundance of the stripeless tree-frog *Hyla meridionalis* by means of replicated call counts. **Acta Herpetologica** 147-151.
- Crump, P.; Berven, K.; Youker-Smith, T.E.; Skelly, D.; Thomas, S.; Houlahan, J. 2017. Predicting anuran abundance using an automated acoustics approach. **Journal of Herpetology** 51(4):582-589.
- De Bastiani, V.I.M.; Boschetti, J.P.; Ernetti, J.R.; Santos, T.G.; Lucas, E.M. 2024. Green, charismatic, microendemic, and threatened: breeding biology of the leaf frog *Pithecopus rusticus* (Anura: Hylidae: Phyllomedusinae). **Journal of Natural History** 58(5-8):285-310.
- De Sá, R.; Gerhau, A. 1983. Observaciones sobre la biología de *Phyllomedusa iheringii* Boulenger 1885 (Anura, Hylidae). **Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay** 1:44-49.
- Dias, T.M.; Prado C.P.A.; Bastos, R.P. 2017a. Nightly calling patterns in a Neotropical gladiator frog. **Acta Herpetologica** 20:207-214.
- Dias, T.M.; Santos, T.G.; Maragno, F.P.; Oliveira, V.F.; Lima, C.; Cechin, S.Z. 2017b. Breeding biology, territoriality, and reproductive site use by *Phyllomedusa iheringii* (Anura: Phyllomedusidae) from the South American Pampa in Brazil. **Salamandra** 53:257-266.

- Duarte, M.; Caliari, E.; Viana, Y.; Nascimento, L.B. 2019. A natural orchestra: How are anuran choruses formed in artificial ponds in southeast Brazil? **Amphibia-Reptilia** 40:1-10.
- Frost, D.R. 2024. **Amphibian Species of the World: an online reference**. Electronic Database accessible at <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- Forti, L.R.; Haddad, C.F.B.; Leite, F.; Drummond, L.O.; de Assis, C.; Crivellari, L.B.; Mello, C.M.; Garcia, P.C.A.; Zornosa-Torres, C.; Toledo, L.F. 2019. Notes on vocalizations of Brazilian amphibians IV: advertisement calls of 20 Atlantic Forest frog species. **PeerJ** 7:e7612.
- Gerhardt, H.C. 1992. Conducting playback experiments and interpreting their results. In: P.K. McGregor (Ed.), **Playback and studies of animal communication**. New York: Plenum Press. 59-77p.
- Gerhardt, H.C. 1995. Phonotaxis in female frogs and toads: execution and design of experiments. In: Klump, G.M.; Dooling, R.J.; Fay, R.R.; Stebbins, W.C. **Methods in comparative psychoacoustics**. BioMethods. Birkhäuser, Basel. p.209-220.
- Gerhardt, H.C.; Huber, F. H.; Simmons, A.M. 2002. **Acoustic communication in insects and anurans: common problems and diverse solutions**. Chicago: University of Chicago Press. 542p.
- Guerra, V.; Costa, N.Q.; Llusia, D.; Márquez, R.; Bastos, R.P. 2020. Nightly patterns of calling activity in anuran assemblages of the Cerrado, Brazil. **Community Ecology** 21(1):33-42.
- Haddad, C.F.B.; Prado, C.P.A. 2005. Reproductive modes in frogs and their unexpected diversity in the Atlantic Forest of Brazil. **BioScience** 55:207-217.
- Hatano, F.H.; Rocha, C.F.D.; Sluys, M.V. 2002. Environmental factors affecting calling activity of a tropical diurnal frog (*Hylodes phyllodes*: Leptodactylidae). **Journal of Herpetology** 36:314-318.
- Hasenack, H.; Weber, E.J.; Boldrini, I.L.; Trevisan, R.; Flores, C.A.; Dewes, H. 2023. Biophysical delineation of grassland ecological systems in the State of Rio Grande do Sul, southern Brazil. **Iheringia, Série Botânica** 78:e2023001.
- Haselmayer, J.; Quinn, J.S. 2000. A comparison of point counts and sound recording as bird survey methods in Amazonian Southeast Peru. **The Condor** 102(4):887-893.
- Iop, S.; Lipinski, V.M.; Madalozzo, B.; Maragno, F.P.; Cechin, S.Z.; Santos, T.G. 2015. Re-description of the external morphology of *Phyllomedusa iheringii* Boulenger, 1885 larvae (Anura: Hylidae), with comments on the external morphology of tadpoles of the *P. burmeisteri* group. **Acta Herpetologica** 10(1): 67-72.
- Langone, J.A.; Prigioni, C.; Venturino, L. 1985. Informe preliminar sobre el comportamiento reproductor y otros aspectos de la biología de *Phyllomedusa iheringii*, Boulenger, 1885 Anura, Hylidae. **Comunicaciones Zoológicas del Museo de Montevideo** 11:1-12.
- Langone, J.A. 1993. Notas sobre *Phyllomedusa iheringii* Boulenger, 1885 (Amphibia, Anura, Hylidae). **Comunicaciones Zoológicas del Museo de Montevideo** 12:1-7.

- Lima, G.F.C. 2022. **Onde cantam as pererecas: a influência da vegetação na seleção de habitat por *Phyllomedusa iheringii* (Anura: Phyllomedusidae).** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Pampa, São Gabriel, 25p.
- Lucas, J.R.; Howard, R.D.; Palmer, J.G. 1996. Callers and satellites: chorus behaviour in anurans as a stochastic dynamic game. **Animal Behaviour** 51:501-518.
- Lukanov, S.; Kolev, A.; Dimitrova, B.; Popgeorgiev, G. 2023. Rice fields as important habitats for three anuran species - significance and implications for conservation. **Animals** 14(1):10.3390/ani14010106.
- Madalozzo, B.; Santos, T.G.; Santos, M.B.; Both, C.; Cechin, S.Z. 2017. Biodiversity assessment: selecting sampling techniques to access anuran diversity in grassland ecosystems. **Wildlife Research** 44(1):78-91.
- Maneyro, R.; Carreira, S. 2012. **Guía de Anfibios del Uruguay.** Montevideo, Ediciones de la fuga (Colección Ciencia Amiga). 207p.
- Marsh, D.M.; Trenham, P. 2001. Metapopulation dynamics and amphibian conservation. **Conservation Biology** 15:40-49.
- Narvaes, P.; Rodrigues, M.T. 2005. Visual communication, reproductive behavior, and home range of *Hylodes dactylocinus* (Anura, Leptodactylidae). **Phyllomedusa: Journal of Herpetology** 4(2):147-158.
- Narins, P.M.; Hödl, W.; Grabul, D.S. 2003. Bimodal signal requisite for agonistic behavior in a dart-poison frog, *Epipedobates femoralis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 100(2):577-580.
- Oishi, T.; Nagai, K.; Harada, Y.; Naruse, M.; Ohtani, M.; Kawano, E.; Tamotsu, S. 2004. Circadian rhythms in amphibians and reptiles: ecological implications. **Biological Rhythm Research** 35(1-2):105-120.
- Oliveira, V.F.; Dias, T.M.; Santos, T.G. 2014a. Multiple amplexus and spawning in the leaf frog *Phyllomedusa iheringii* (Hylidae, Phyllomedusinae). **Herpetology Notes** 7:119-120.
- Oliveira, V.F. 2014b. **Distribuição espaço-temporal de anfíbios anuros em uma localidade da Serra do Sudeste, Pampa gaúcho.** Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal do Pampa, São Gabriel. 24p.
- Peel, M.; Finlayson, B.; McMahon, T. 2007. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences** 11(5):1633-1644.
- Pröhl, H. 2002. Population differences in female resource abundance, adult sex ratio, and male mating success in *Dendrobates pumilio*. **Behavioral Ecology** 13(2):175-181.
- Pombal Jr., J.P.; Haddad, C.F.B. 2005. Estratégias e modos reprodutivos de anuros (Amphibia) em uma poça permanente na Serra de Paranapiacaba, Sudeste do Brasil. **Papéis Avulsos de Zoologia** 45(15):215-229.
- Ryan, M.; Tuttle, M.; Rand, A. 1982. Sexual advertisement and bat predation in a Neotropical frog. **The American Naturalist** 119:136-139.

- Reichert, M. 2010. Aggressive thresholds in *Dendropsophus ebraccatus*: habituation and sensitization to different call types. **Behavioral Ecology and Sociobiology** 64:529-539.
- Santos, T.G.; Cechin, S.Z. 2008. Amphibia, Anura, Leptodactylidae, *Leptodactylus chaquensis*: Distribution extension in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Check List** 4(2):142-144.
- Santos, T.G.; Maneyro, R.; Cechin, S.Z.; Haddad, C.F.B. 2011. Breeding habitat and natural history notes of the toad *Melanophryniscus pachyrhynus* (Miranda-Ribeiro, 1920) (Anura: Bufonidae) in Southern Brazil. **Herpetological Bulletin** 116:15-18.
- Santos, T.G. 2022. **Girinos do Pampa**. Base de dados eletrônica acessível em: <https://girinosdopampa.com>.
- Santos, M.B.; Madalozzo, B.; Tozetti, A.M.; Loebens, L.; Cechin, S.Z. 2020. Climatic dependence in the daily and seasonal calling activity of anurans from coastal wetlands of southernmost Brazil. **Journal of Natural History** 54(31-32):2037-2052.
- Semlitsch, R.D. 2000. Principles for management of aquatic-breeding amphibians. **The Journal of Wildlife Management** 64(3):615-631.
- Steen, D.A.; McClure, C.J.W.; Graham, S.P. 2013. Relative influence of weather and season on anuran calling activity. **Canadian Journal of Zoology** 91(7):462-467.
- Sueur, J. 2018. **Sound Analysis and Synthesis with R**. Cham: Springer International Publishing. (Use R!). Disponível em: <<http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-77647-7>>.
- 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.
- Toledo, L.F.; Martins, I.A.; Bruschi, D.P.; Passos, M.A.; Alexandre, C.; Haddad, C.F.B. 2015. The anuran calling repertoire in the light of social context. **Acta Ethologica** 18:87-99.
- Van Buskirk, J. 2005. Local and landscape influence on amphibian occurrence and abundance. **Ecology** 86(7):1936-1947.
- Vasconcelos, T.S.; Silva, F.R.; Santos, T.G.; Prado, V.; Provete, D. 2019. **Biogeographic patterns of South American anurans**. Switzerland: Springer International Publishing. 149p.
- Vitt, L.J.; Caldwell, J.P. 2014. **Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles**. San Diego: Academic press. 757p.
- Ximenez, S.S.; Tozetti, A.M. 2015. Seasonality in anuran activity and calling season in a Brazilian subtemperate wetland. **Zoological Studies** 54:1-9.
- Wells, K.D. 1977. The courtship of frogs. In: Taylor, D.H.; Guttman, S.I. **The reproductive biology of amphibians**. New York: Plenum. p.233-262.
- Wells, K.D. 2007. **The ecology & behavior of amphibians**. Chicago: The University of Chicago Press. 1148p.
- Wogel, H.; Abrunhosa, P. A.; Pombal Jr, J.P. 2005. Breeding behaviour and mating success of *Phyllomedusa rohdei* (Anura, Hylidae) in south-eastern Brazil. **Journal of Natural History** 39(22):2035-2045.

Woolbright, L.L.; Greene, E.J.; Rapp, G.C. 1990. Density-dependent mate searching strategies of male woodfrogs. *Animal Behaviour* 40(1):135-142.

Material suplementar. Parâmetros do canto de anúncio (A) e do canto territorial (B) de *Phyllomedusa iheringii*, São Sepé, RS.

A) Canto de anúncio								
Track (.wav)	210924_1	210924_1	210924_1	210924_1				
Call	1	2	3	4	Media	Min.	Max.	
Number of notes	4	4	5	4	4	4	5	
Call structure	Pulsed notes	Pulsed notes	Pulsed notes	Pulsed notes				
Call duration (ms)	0.2002	0.213	0.3301	0.2195	0.241	0.200	0.330	
Mean Note duration (ms)	0.015	0.023	0.019	0.023	0.020	0.015	0.023	
Mean inter-notes interval (ms)	0.043	0.038	0.042	0.039	0.041	0.038	0.043	
Peak frequency (kHz)	1162.793	1119.727	1076.66	1550.391	1227.393	1076.660	1550.391	
Bandwidth-frequency (kHz)	881.891	986.974	918.75	536.696	831.078	536.696	986.974	
Note duration (ms)	0.0178	0.0224	0.0159	0.021				
Note duration (ms)	0.0187	0.035	0.0294	0.0229				
Note duration (ms)	0.0093	0.0126	0.0117	0.0252				
Inter-notes interval (ms)	0.0378	0.0322	0.0486	0.035				
Inter-notes interval (ms)	0.043	0.0411	0.0542	0.0392				
Inter-notes interval (ms)	0.0472	0.0411	0.0229	0.0439				
B) Canto territorial								
Track (.wav)	210924_20_filt	210924_20_filt	210924_20_filt	210924_20_filt	210924_20_filt			
Call	1	2	3	4	5	Media	Min.	Max.
Number of notes	12	10	12	11	28	15	10	28
Call structure	Pulsed	Pulsed	Pulsed	Pulsed	Pulsed			
Call duration (ms)	0.9694	0.8322	0.9421	0.8837	1.3282	0.991	0.832	1.328
Mean Note duration (ms)	0.033	0.042	0.041	0.020	0.017	0.031	0.017	0.042
Mean inter-notes interval (ms)	0.046	0.057	0.052	0.059	0.051	0.053	0.046	0.059
Peak frequency (kHz)	1076.66	1076.66	1076.66	1076.66	1119.727	1085.273	1076.660	1119.727
Bandwidth-frequency (kHz)	533.874	488.849	540.307	540.307	720.409	564.749	488.849	720.409
Note duration (ms)	0.0139	0.0117	0.0179	0.0095	0.0175			
Note duration (ms)	0.0322	0.033	0.0357	0.0311	0.0164			
Note duration (ms)	0.053	0.081	0.07	0.0189	0.0164			
Inter-notes interval (ms)	0.0507	0.0666	0.0549	0.0703	0.0975			
Inter-notes interval (ms)	0.0603	0.0604	0.0563	0.073	0.0395			
Inter-notes interval (ms)	0.0261	0.0439	0.0439	0.0325	0.0153			