



UCSAL
**UNIVERSIDADE
CATÓLICA
DO SALVADOR**

**PRÓ-REITORIA DE GRADUAÇÃO E EXTENSÃO COMUNITÁRIA
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS:
Biologia e Conservação de Ecossistemas Terrestres e Aquáticos
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO – TCC II**

Desafios para comunicação acústica animal em ambientes com ruído: o que sabemos sobre adaptação em anfíbios?

MARIA RITA DE MELO SAMPAIO

Orientadores:
Prof. Dr. Marcelo Cesar Lima Peres
Prof. Dr. Lucas Rodriguez Forti

SALVADOR
2020

MARIA RITA DE MELO SAMPAIO

Desafios para comunicação acústica animal em ambientes com ruído: o que sabemos sobre adaptação em anfíbios?

Artigo Científico apresentado ao Curso de Ciências Biológicas da Universidade Católica do Salvador, como parte do requisito para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadores:
Prof. Dr. Marcelo Cesar Lima Peres
Prof. Dr. Lucas Rodriguez Forti

SALVADOR
2020

FOLHA DE APROVAÇÃO

Maria Rita de Melo Sampaio

DESAFIOS PARA COMUNICAÇÃO ACÚSTICA ANIMAL EM AMBIENTES COM RUÍDO: O QUE SABEMOS SOBRE ADAPTAÇÃO EM ANFÍBIOS?

Este trabalho de Conclusão do Curso foi julgado e aprovado para obtenção de crédito total no Trabalho de Conclusão de Curso – TCC do Curso de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Católica do Salvador.

Salvador, 10 de dezembro de 2020.

Profa. Kátia Regina Benati
Coordenadora do TCC

BANCA EXAMINADORA:

Orientador (a)

Prof. Dr. Marcelo Cesar Lima Peres
Universidade Católica do Salvador

Co-orientador (a)

Prof. Dr. Lucas Rodriguez Forti
Universidade Federal da Bahia

Banca examinadora – Membro interno

Prof. Dra. Kátia Regina Benati
Universidade Católica do Salvador

Banca examinadora – Membro externo

Prof. Dr. Marcelo Felgueiras Napoli
Universidade Federal da Bahia

AGRADECIMENTOS

A todos os meus professores, da Universidade Católica do Salvador pela qualidade de ensino oferecido.

Agradeço aos meus orientadores, Marcelo Peres e Lucas Forti, pelas correções, motivações e ensinamentos que me permitiram apresentar um melhor desempenho no meu processo de formação profissional.

Ao Prof. Marcelo Napoli por ter me acolhido em seu laboratório, por dispor do espaço físico para que eu pudesse executar boa parte do meu trabalho.

A todos do laboratório Amphibia, pelo acolhimento e pela ajuda ao longo do TCC.

A banca avaliadora, Kátia Benati e Marcelo Napoli, por aceitarem o convite e por toda contribuição.

Aos meus amigos, que sempre estiveram presentes nos bons e maus momentos, agradeço por todo apoio e pela ajuda que contribuíram para a realização desse trabalho.

SUMÁRIO

Fundamentação teórica	7
Resumo (Artigo submetido na revista Oecologia)	12
Introdução	14
Materiais e Métodos	17
<i>Espécie estudada</i>	17
<i>Área de Estudo</i>	17
<i>Coleta de dados</i>	17
<i>Obtenção de variáveis acústicas</i>	18
<i>Análise de dados</i>	20
Resultados	21
<i>Canto de anúncio: descrição e variabilidade em propriedades acústicas</i>	21
<i>Nível real de ruído nos microhabitats de vocalização</i>	22
<i>Sobreposição espectral com espécies sincrônicas</i>	22
<i>Estrutura geográfica em padrões acústicos</i>	23
<i>Diferenças acústicas entre indivíduos e o ambiente de vocalização</i>	24
Discussão	26
Considerações finais	29
Referências (Artigo submetido na revista Oecologia)	31

Fundamentação teórica

Os sinais emitidos por animais podem desempenhar diversas funções, como reconhecer coespecíficos, alertar a presença de predadores, selecionar, defender territórios e resolvem disputas por fêmeas, evitando confronto direto (Goodenough *et al.* 2009).

Esse tipo de comunicação tem vantagens em locais com vegetação densa e ainda pode servir para troca de informações em longas distâncias (Bradbury e Vehrencamp, 2011). Ainda que existam essas vantagens na comunicação através do som, esse tipo de interpretação pode ser limitado por características ambientais que degradam o sinal, sendo uma delas a presença de ruídos. Dessa maneira, o ruído de fundo é qualquer tipo de energia presente no ambiente que é irrelevante para a comunicação entre o emissor e o receptor (Lohr *et al.* 2003).

Os ruídos bióticos (ruído de indivíduos coespecíficos e heteroespecíficos) e abióticos são elementos do ambiente que podem causar interferências na transmissão de informações sonoras. Os ruídos prejudicam a comunicação acústica porque podem modificar a estrutura de sinais acústicos como duração, repetição de notas, amplitude do sinal (Wood e Yezerinac, 2006).

A transferência do sinal acústico pode sofrer interferências na estrutura dos sinais causando perdas de informações das características acústicas. A vegetação (Wiley e Richards, 1980), vocalização de outros indivíduos, características ambientais, como temperatura e vento, atuam como fatores que afetam a propagação do sinal acústico. Fatores como atenuação (diminuição da intensidade) (Wiley e Richards, 1980; Brumm e Slabbekoorn, 2005), degradação (mudança temporal, estrutural e nos padrões de frequência) (Naguib, 2003; Richards e Wiley, 1980) e mascaramento do som (sobreposição espectral) (Wiley e Richards, 1978) são fatores que irão afetar diretamente a discriminação da informação enviada pelo emissor, prejudicando a capacidade do animal em ajustar seus sinais em tempo real (Halfwerk e Slabbekoorn, 2015).

Em ambientes ruidosos, alguns animais tentam superar os problemas de interferência acústica. Para isso, muitos animais aumentam a intensidade de suas vocalizações como uma maneira de melhorar a transmissão de seus sinais (Beckers *et al.* 2003). Esse fenômeno é denominado de *Efeito Lombard* (Brumm e Naguib, 2009). Diversas espécies podem utilizar esse mecanismo, incluindo o ser humano (Brumm e Zollinger, 2011), aumentando a eficiência da sinalização acústica (Brumm e Slabbekoorn, 2005). O Efeito Lombard observado em diversas espécies de grupos distintos, como; rouxinóis (Brumm, 2004);

periquitos *Melospitacus undulatus* (Manabe e Dooling, 1998) e no anuro *Leptodactylus albilabris* (Lopez et al.1988), no anuro *Physalaemus pustulosus* (Halfwerk et al. 2016) e na rã chinesa *Odorrana tormota* (Shen e Xu, 2016).

No caso dos anfíbios que precisam lidar com ruído intermitente, uma vez que eles compartilham habitats reprodutivos com diversas espécies, e acabam sofrendo do efeito de coros heteroespecíficos. Um mecanismo para reduzir essa sobreposição com sinais de maior conflito espectral é a organização temporal da emissão das vocalizações (Vélez et al. 2013). Em alguns casos, essa convergência de frequências entre espécies sintópicas podem impulsionar o deslocamento temporário de frequência como uma estratégia para reduzir o mascaramento (Jansen et al. 2016).

A busca pela redução de interferências acústicas no ambiente é relevante para maximizar o sucesso reprodutivo, uma vez que animais utilizam a vocalização como uma ferramenta de atração de parceiros (Barber, Crooks e Fristrup, 2010). Nesse contexto, indivíduos que vivem em ambientes com ruído constante e elevado, não têm a possibilidade de sincronizar sua vocalização de acordo com a energia temporal do ruído, esse tipo de pressão seletiva para espécies inseridas nesses cenários, apresentam assimetrias acústicas, de acordo com estudos (Feng et al. 2002; Narins et al. 2004; Feng et al. 2006) que apresentam vocalizações altas, incluindo faixas ultrassônicas.

O sinal pode ser afetado por pressões seletivas para maximizar o processo de comunicação, agindo sobre o sinal, comportamento ou fisiologia (Witte et al. 2005). Por isso, os animais têm suas vocalizações adaptadas a fim de melhorar a transmissão e otimização da informação (Rothstein e Fleischer, 1987). Essa ideia tem sido chamada de “Hipótese de adaptação acústica” (HAA) (Blumstein; Fernández-Juricic, 2010). Boncoraglio e Saino, (2007) realizaram estudo para verificar as evidências sobre a HAA em aves, e demonstraram que existem diferenças na frequência entre cantos de aves de habitat de vegetação fechada e aberta, e estas diferenças consistentes com a previsão da HAA. Para anuros houveram vários estudos que objetivaram testar a hipótese, porém, não obtiveram resultados confirmaram que essa estratégia neste grupo taxonômico. Porém, Parris (2002) realizou estudos com modelos matemáticos, apoiando a hipótese e trazendo como sugestão que experimentos de propagação de som sejam realizados para testar o que a hipótese sugere.

Ambientes lóticos, como riachos e corredeiras, são locais utilizados para fins reprodutivos por diversos anuros, forma coros intermitentes (Bastos e Haddad, 1996, 1999) Além da presença da vocalização de outras espécies, os anuros precisam lidar com o ruído

de baixa frequência oriundo desse ambiente (Wells, 2007; Wood e Yezerinac, 2006).

Embora diversas espécies sobreponham temporalmente nos habitats reprodutivos, as diferenças em seus sítios de vocalização ajudam a reduzir os problemas de localização de parceiros (Vasconcelos e Rossa-Feres, 2008). Além disso, as diferenças na estrutura dos sinais acústicos também evitam problemas de comunicação e formação de casais heteroespecíficos (Pombal Jr, 2010) promovida pela seleção natural (Rothstein e Fleischer, 1987), apresentados os ajustes de acordo com suas condições de habitat; esses ajustes podem ser mediados por plasticidade fenotípica. Apesar do canto em anfíbios serem genéticos e inatos muitas propriedades podem mostrar variação e plasticidade (Giacoma e Castellano, 2001).

Como comentado anteriormente, os ruídos antropogênicos também causam desafios na comunicação animal. Estudos como o de Cunnington e Faring, (2010), demonstraram que o aumento no ruído do tráfego causa mudanças imediatas em características da vocalização dos anuros *Rana clamitans*, *Rana pipiens*, *Hyla versicolor* e *Bufo americanos*. Foi evidenciado no trabalho de Parris *et al.* (2009), que a espécie *Litoria ewingii*, vocaliza mais alto na presença de ruídos de tráfego.

Os sons antropogênicos causam distúrbios na paisagem sonora, inibindo a percepção do sinal acústico e causando mascaramento do som (Pijanowski, Farina, *et al.* 2011). Os ruídos ambientais sempre estiveram presentes na vida animal, porém a inserção de ruídos antrópicos em habitats naturais, causam novas fontes estressoras (Barber *et al.* 2010). Esse ruído mascara sinais acústicos emitidos por espécies, podendo ainda afetar diretamente a fisiologia reprodutiva como na perda da obtenção de alimentos, acasalamento, interações agressivas desnecessárias resultando em um aumento do gasto energético (Bradbury e Vehrencamp 1998; Pijanowski, Farina, *et al.* 2011).

Algumas espécies de aves *Parus major* (Slabbekoorn e Peet, 2003); *Melospiza melodia* (Wood e Yezerinac, 2006), ao longo do tempo as espécies passaram por modificações e adaptações nas características acústicas como amplitude, duração e taxa de canto para compensar os altos níveis de ruído antropogênico (Gerhardt e Schwartz, 2001). Em anuros o impacto do ruído antropogênico ainda é pouco conhecido comparado a outros grupos (Sun e Narins, 2005), porém estudos com *Microhyla butleri*, *Rana nigrovittata* e *Kaloula pulchra* apontaram diferenças nas vocalizações sob ruído antropogênico (Sun e Narins, 2005).

Estudos anteriores demonstraram animais que possuem comunicação em frequências

mais estreitas (amplitude espectral), apresentam melhor adaptação para ruído antropogênico por conseguir romper o mascaramento com mais facilidade (Sun e Narins, 2005; Warren e Madhusudankatti, 2006). Foi observado também que em situações de cores heteroespecíficas, estimulados por competição, os animais são menos susceptíveis a influência de outras fontes de ruído, já que nessa situação, as espécies sofreram pressão ao longo do tempo para ajustar suas propriedades acústicas temporais ou de frequência, para aumentar a eficiência na transferência de informação durante a competição (Sun e Narins, 2005; Warren e Madhusudankatti, 2006).

As propriedades acústicas presentes na vocalização dos anfíbios podem ter papéis importantes na comunicação intraespecífica e por tanto, elas podem variar de forma diferente de acordo com certas situações. As propriedades temporais do canto (taxa de repetição e duração do canto, por exemplo) variam mais do que as propriedades espectrais (frequência dominante e fundamental), visto que elas estão relacionadas com condições ambientais, principalmente a temperatura (Gerhardt, 1991; Gerhardt e Bee, 2007). Já as propriedades espectrais estão relacionadas com o tamanho do corpo e são peças chave para o reconhecimento específico (Gerhardt, 1991; Gerhardt e Huber, 2002; Gerhardt e Bee, 2007), apresentando uma menor variação. O ajuste dessas propriedades acústicas, contribui para reduzir problemas na comunicação relacionado ao ruído ambiental (Wiley, 2013).

Manuscrito formatado nas normas da revista **Oecologia**

Lucas Rodriguez Forti, Maria Rita de Melo Sampaio, Clara Resende Pires, Judit K. Szabo e
Luís Felipe Toledo

Resumo

A comunicação acústica em ambientes com ruídos naturais intensos e constantes pode ser um grande desafio para os animais. Para que interações sociais aconteçam de forma eficiente, os sinais acústicos passam por pressões seletivas para mudanças tanto em escala evolutiva, como ecológica. Dessa forma, é esperado que os sinais acústicos emitidos por um animal tenham fortes relações com as características do ambiente onde eles são produzidos. Essa premissa tem sido chamada de hipótese de adaptação acústica e ainda é pouco estudada como um potencial mecanismo de maximização de transmissão de sinais em anfíbios Neotropicais. Em nosso trabalho nós estudamos o canto de anúncio de uma espécie de anuro que ocupa riachos da Mata Atlântica brasileira e avaliamos a relação de suas propriedades acústicas com a intensidade de ruído abiótico (corredeiras) e com a duração de sinais conflitantes e intermitentes produzidos por heteroespecíficos sincrônicos. Para isso gravamos um total de 54 machos da espécie *Crossodactylus caramaschii*, utilizando microfones com ajustes de ganho padronizados para caracterizar a amplitude de ruído de fundo em cada gravação. Nós utilizamos modelos lineares de efeitos mistos para entender o papel desses efeitos, além do tamanho do corpo e temperatura do ar sobre as diferenças acústicas entre indivíduos controlados por localidade (dado às diferenças geográficas nos sinais acústicos dentro da espécie). Em nossos modelos achamos relações significativas entre amplitude do ruído abiótico e a duração do canto de anúncio da espécie, sendo que vocalizações mais longas foram registradas em ambientes com maior amplitude de ruído das corredeiras. A duração

total de sinais heteroespecíficos foi negativamente relacionada com a amplitude espectral dos cantos de anúncio. Nós sugerimos que o estreitamento da amplitude espectral possa ser uma estratégia para superar o mascaramento e ampliar a indução auditiva pelos receptores. Nosso trabalho gera evidências do funcionamento da hipótese de adaptação acústica e traz novas perspectivas para aumentar nossa compreensão sobre o papel do ambiente na modelação do comportamento.

Palavras-Chave: Hipótese da adaptação acústica; Anura; Ruído de fundo; Bioacústica; Comunicação

Introdução

A comunicação acústica é um processo fundamental para a manutenção das interações sociais em diversas espécies (Taylor, 2016; Snijders e Naguib, 2017). Para muitos grupos animais, sons específicos são empregados em diversas tarefas, como para organização espacial, localização de recursos e ameaças, disputa por territórios e acesso à parceiros reprodutivos (Goodenough et al. 2009). Contudo, a eficiência da comunicação por produção de som é muitas vezes influenciada por pressões seletivas provenientes das características do ambiente de comunicação, as quais podem afetar a qualidade da transferência de informação entre emissor e receptor (Bradbury e Vehrencamp, 2011; Velásquez et al. 2018). Desse modo, fatores ambientais, como a configuração espacial da vegetação e ruídos de fundo, podem tanto fomentar alterações evolutivas mudanças de longo prazo, como ecológicas mudanças de curto prazo sobre as características acústicas dos sinais envolvidos com as funções supracitadas (Wilkins et al. 2013).

A ideia de que o ambiente é capaz de limitar a detectabilidade de informações acusticamente codificadas, e, portanto, direcionar ajustes de características dos sinais acústicos para aumentar sua eficiência de propagação, é conhecida como “O conceito da Hipótese da Adaptação Acústica sugere que o emissor é favorecido por ajustar sua vocalização diante de certas restrições ambientais do local onde o sinal é produzido (Forrest, 1994). Para muitos animais, o ruído do ambiente, sendo ele natural ou antrópico, implica em desafios para uma comunicação eficiente, uma vez que a presença do som no ambiente tem potencial para mascarar os sinais produzidos pelo indivíduo emissor (Brumm, 2013).

Diversas estratégias, por diferentes animais, têm sido experimentalmente observadas para contornar problemas de interferência em ambientes com níveis elevados de ruído (Brumm, 2013). A mais frequente delas é o aumento da intensidade (amplitude) das vocalizações em locais com excesso de ruído, um fenômeno conhecido como efeito Lombard (Brumm e Naguib, 2009; Hotchkyn e Parks, 2013; Halfwerk et al. 2016). Esse ajuste, em certas ocasiões, pode resultar conjuntamente em um aumento de frequência nas vocalizações, uma vez que essa propriedade está associada com a energia que é destinada para a produção do sinal no aparelho vocal (Potvin e Mulder, 2013). Esse subproduto do aumento de amplitude do sinal pode ser adaptativo quando o ruído tem origem antropogênica ou geofônica, cuja energia se concentra, normalmente, em faixas de frequência mais baixas, por isso o aumento de frequência da vocalização reduz a sobreposição espectral com o ruído de fundo (Luther e Gentry, 2013).

Contudo, muitas espécies de anfíbios, frequentemente precisam lidar com ruídos intermitentes de outras espécies, com as quais compartilham habitats reprodutivos comuns e sofrem o efeito de coros heteroespecíficos formados por centenas de outros indivíduos (Murphy, 2003, Wells e Schwartz, 2007). Um mecanismo para lidar com esse desafio é a organização temporal da emissão dos sinais, evitando principalmente a sobreposição com aqueles sinais de maior conflito espectral (Vélez et al. 2013). Em alguns casos, essa convergência de frequências entre espécies sintópicas ainda pode impulsionar o deslocamento temporário de frequência como uma estratégia para reduzir o mascaramento (Both e Grant, 2012; Jansen et al. 2016). Por outro lado, espécies que ocupam riachos ou corredeiras estão sujeitas a ocupar microhabitats com níveis elevados de ruído constante, não tendo a possibilidade de sincronizar seus cantos de acordo com a variação temporal na energia do ruído (Shen e Xu, 2016). Estudos têm sugerido que esse tipo de pressão seletiva tem gerado assimetrias acústicas em algumas espécies, as quais apresentam vocalizações ocupando frequências notavelmente altas, incluindo faixas ultrassônicas (Feng et al. 2002; Narins et al. 2004; Feng et al. 2006). Nesse contexto, a assimetria acústica seria um mecanismo evolutivo para superar a interferência por um ruído constante.

Essas mudanças evolutivas em anfíbios só são possíveis porque existe considerável variação acústica, especialmente entre populações diferentes (Forti et al. 2017; Halfwerk et al. 2019; Tonini et al. 2020). No entanto, os anuros, de modo geral apresentam substancial plasticidade acústica, a qual tem sido sugerida como um resultado da seleção sexual (Wells e Schwartz, 2007). Assim, como já comentado anteriormente, indivíduos podem ativamente ajustar suas vocalizações considerando seus limites fenotípicos e isso irá depender de condições sociais e ecológicas (Reichert e Gerhardt, 2013; Roca et al. 2016). De forma geral, as propriedades espectrais das vocalizações de anuros variam menos do que as propriedades temporais, pois muitas delas são dependentes do tamanho do corpo e são peças chave para o reconhecimento específico (Gerhardt, 1991; Gerhardt e Huber, 2002; Gingras et al. 2013). Porém, supostamente, a possibilidade de ajustar propriedades acústicas, sendo elas temporais ou espectrais, torna possível contornar ou minimizar problemas de comunicação relacionados ao ruído no ambiente (Wiley, 2013).

Embora a HAA já tenha sido testada amplamente, ainda são poucos os estudos, especialmente com anfíbios Neotropicais, que têm buscado identificar quais propriedades de sinais acústicos mostram relações com o ambiente (Ey e Fischer, 2009; Erdtmann e Lima, 2012; Goutte et al. 2018; Röhr et al. 2020). Dessa forma, entender como os anfíbios

contornam problemas de ruído por meio de estratégias é importante para aumentar a compreensão sobre os anfíbios Neotropicais.

Nesse trabalho nós estudamos o canto de anúncio do anuro *Crossodactylus caramashii* que ocupa riachos da Mata Atlântica brasileira. Nós avaliamos a variação nos níveis de pressão sonora em seus microhabitats de vocalização e verificamos se a variação na amplitude de ruído abiótico e a duração de ruído biótico com sobreposição espectral tem relação com as propriedades acústicas da vocalização dos machos. Adicionalmente, nós discutimos as implicações dos efeitos de ruídos de diferentes naturezas sobre a vocalização dessa espécie.

Materiais e Métodos

Espécie estudada

Crossodactylus caramaschii é uma espécie de anuro que ocorre em pequenos riachos de Mata Atlântica (Floresta Ombrófila Densa), entre o sul do estado de São Paulo e algumas localidades no Paraná e Santa Catarina (Frost, 2016). A espécie é descrita do município de Eldorado, estado de São Paulo e é membro do grupo de espécies relacionada a *Crossodactylus gaudichaudii* (Frost, 2016). Machos mantêm atividade diurna de vocalização sobre rochas em corredeiras ou em leitos de pequenos riachos (Bastos e Pombal Jr., 1995). O canto de anúncio, de estrutura harmônica, foi inicialmente descrito de um único macho a partir da população topotípica, com média de duração de 5,5 segundos. Os cantos possuem entre 49 a 69 notas, com frequência dominante de 5000 Hz e frequência fundamental de 1600 Hz (Bastos e Pombal Jr., 1995).

Área de Estudo

Nós estudamos o canto de anúncio de *Crossodactylus caramaschii* em 4 municípios de um estudo na Mata Atlântica do Sudeste do Brasil (Recurso online 1). Essas localidades estão inseridas em um mesmo remanescente de floresta primária com vegetação ombrófila densa, fazendo parte do complexo de montanhas da Serra do Mar, no sul do estado de São Paulo. As populações de *C. caramaschii* foram amostradas em riachos presentes dentro de 4 unidades de conservação públicas.

Coleta de dados

Nós gravamos um total de 54 machos de *Crossodactylus caramaschii* nas quatro localidades amostradas. Fizemos uma campanha piloto em agosto de 2014 e gravamos dois machos em Ribeirão Grande e depois completamos o estudo com mais 4 campanhas abarcando todas as localidades entre os meses de agosto e dezembro de 2017. Para as gravações, utilizamos um microfone Sennheiser ME66/k6 acoplado a um gravador Zoom H4N. Cada gravação teve duração de 15 minutos (exceto as duas gravações da expedição piloto que tiveram cerca de 5 minutos), e ocorreu a uma distância aproximada de 1 m dos machos, tendo o microfone posicionado sobre um tripé de 60 cm de altura. Em todas nossas gravações configuramos o gravador com o mesmo padrão de ganho de energia, 24 bits de resolução e taxa de amostragem de 96 kHz. Para todos os machos gravados relatamos

se houve sincronicidade em atividade acústica ou ausência de duas espécies da família Hylodidae (*Hylodes cardosoi* e *H. heyeri*), as quais podem coexistir nos mesmos riachos e vocalizar simultaneamente aos machos de *C. caramaschii*. Durante as gravações obtivemos dados de temperatura e umidade relativa do ar, utilizando termo-higrômetro digital Instrutemp (ITWH 1280) instalado no ambiente e próximo aos locais de gravação. Após as gravações os machos eram capturados e tinham o comprimento rostro-cloacal (CRC) aferido com auxílio de paquímetro digital Mitutoyo 200 mm (precisão 0.1 mm). Machos coletados sob permissão (ICMbio permit #57611-2) foram depositados na coleção do Museu de Zoologia “prof. Adão José Cardoso”, Universidade Estadual de Campinas (Unicamp), Campinas, São Paulo, Brasil (ZUEC 24007-38; 24043-60; 24284-8; 24291-5).

Afim de entender e descrever a variação real em ruído nos microhabitats da espécie, nós, acessoriamente, obtivemos medidas de nível de pressão sonora em 46 pontos distribuídos nos riachos das quatro localidades onde o estudo foi realizado. Para isso usamos um decibelímetro Instrutherm DEC-490, que era posicionado nos locais onde machos foram previamente observados em atividade vocal e o condensador era voltado para o ruído com origem mais próxima. Esses 46 microhabitats, no entanto, não representam exatamente os mesmos pontos dos machos gravados na etapa anterior de coleta de dados. Para os registros de nível de pressão nós utilizamos o modo *fast time weighting*, com amplitude de 30 a 130 dBC. Usamos uma taxa de amostragem de 2 segundos por 10 minutos e obtivemos um total de 14773 registros.

Obtenção de variáveis acústicas

Analisamos um total de 782 cantos de anúncio de *Crossodactylus caramaschii* e 933 cantos de outras duas espécies sintópicas de Hylodidae: *Hylodes heyeri* (875) e *H. cardosoi* (58), as quais foram registradas como ruído de fundo em algumas gravações de *C. caramaschii* em Iporanga e Eldorado. Nossas análises acústicas foram realizadas no software Raven Pro 64 1.5 (Center for Conservation Bioacoustics, 2011). Nós padronizamos todos os áudios com 16 bit de resolução e 44kHz de profundidade para que os arquivos ficassem mais leves. Eliminamos os ruídos de fundo abaixo de 1000 Hz, usando a função “Batch Band Filter”. Os cantos foram individualmente normalizados com a amplitude de -0.8 dB no software Audacity 2.0.5. Utilizamos FFT (Fast Fourier Transformation) de 1024, sobreposição de janela (*overlap*) de 75 % e janela do tipo Hann. Nós medimos 10 variáveis acústicas dos cantos de anúncio de *C. caramaschii*: (1) duração do canto (s); (2) duração da

nota (s); (3) taxa de cantos; (4) número de notas; (5) intervalo entre cantos (s); (6) tempo de chegada até amplitude máxima (s); (7) amplitude espectral (Hz); (8) frequência mínima (Hz); (9) frequência dominante (Hz); e (10) frequência máxima (Hz). Nas vocalizações das duas espécies de *Hylodes* nós medimos a duração do canto (s), a frequência mínima (Hz) e a frequência máxima (Hz). Nós levantamos esses dados para obter o grau de sobreposição espectral entre as espécies e calcular a duração total (somada) de ruído biótico para cada macho de *C. caramaschii* gravado. A duração do canto das duas espécies de *Hylodes* foram somadas em cada áudio como uma aproximação para mensurar o nível de impacto dessas vocalizações sobre a vocalização de cada macho de *C. caramaschii* gravado. Para calcular a sobreposição espectral nós obtivemos a frequência mínima e máxima média para cada espécie de *Hylodes* e calculamos a sobreposição de frequências baseada na amplitude de frequência de cada espécie de *Hylodes* sobre a amplitude de frequência de cada macho de *Crossodactylus caramaschii* gravado. Dessa maneira pudemos estimar o nível de mascaramento espectral dessas espécies sobre a vocalização de cada macho de *C. caramaschii*.

Para obtenção dos valores das propriedades acústicas mencionadas acima nós utilizamos o recurso “*choose measurements*” com as seguintes funções: (1) Delta Time (s); (2) Frequency 5% (Hz) e (3) Frequency 95% (Hz) - as duas medidas incluem frequência mínima e máxima ignorando 5 % de intervalo de confiança para energia total do canto selecionado; (4) Bandwidth 90% (Hz) - mede a amplitude de frequência usando o mesmo intervalo de confiança (diferença entre Frequency 95% e Frequency 5%); e (5) Peak Frequency (Hz) - mede o pico da frequência dominante (frequência na qual a potência é máxima dentro do canto selecionado).

A partir de cada áudio original nós também extraímos a amplitude de ruído abiótico depois de filtrar os sons acima de 1000 Hz, utilizando a função “Batch Band Filter” no Raven Pro 64 1.5 (Center for Conservation Bioacoustics, 2011). Com os arquivos filtrados nós obtivemos os valores de mediana do envelope de amplitude do ruído abiótico (MAEAN) através do pacote *seewave* (Sueur et al. 2008) e *tuneR* (Ligges et al. 2018) no software R versão 4.0.2 (R Core Development Team, 2019). Essa variável foi usada como uma aproximação do nível de ruído abiótico contínuo no ambiente de cada macho gravado.

Análise de dados

Para cada propriedade acústica quantitativa nós calculamos o coeficiente de variação através da fórmula “coeficiente de variação (cv) = (desvio padrão / média) x 100” em três níveis: 1. Indivíduo, 2. População e 3. Espécie. A variação dentro do indivíduo nos permitiu caracterizar as propriedades acústicas segundo as seguintes denominações: estáticas (cv < 6%), intermediárias (cv entre 6 e 12 %) e dinâmicas (cv > 12 %) (Gerhardt, 1991)

A fim de avaliar possíveis diferenças acústicas entre as populações estudadas nós realizamos uma análise de componentes principais utilizando as 10 propriedades acústicas mensuradas e plotamos os dois principais eixos para avaliar se a distribuição seguiria uma estrutura geográfica de organização. Para isso nós utilizamos os pacotes FactoMineR (Lê et al., 2008) e factoextra (Kassambara e Mundt, 2020) no software R 4.0.2 (R Core Team, 2020). Depois de averiguar quais propriedades acústicas mais contribuíram para o padrão encontrado, nós correlacionamos essas variáveis com o tamanho do corpo dos indivíduos (CRC) através da função *cor.test* usando o método “Spearman”, pois as variáveis não apresentaram normalidade. Nós ainda testamos se as diferenças acústicas entre populações seriam devidas a distância geográfica através da correlação de matrizes, usando o teste de Mantel no pacote *vegan* (Oksanen et al. 2019) do software R 4.0.2 (R Core Team, 2020). Para isso calculamos a dissimilaridade acústica através da distância euclidiana com a função *vegdist* e correlacionamos com a matriz de distância geográfica através da função *mantel* com método “Pearson”.

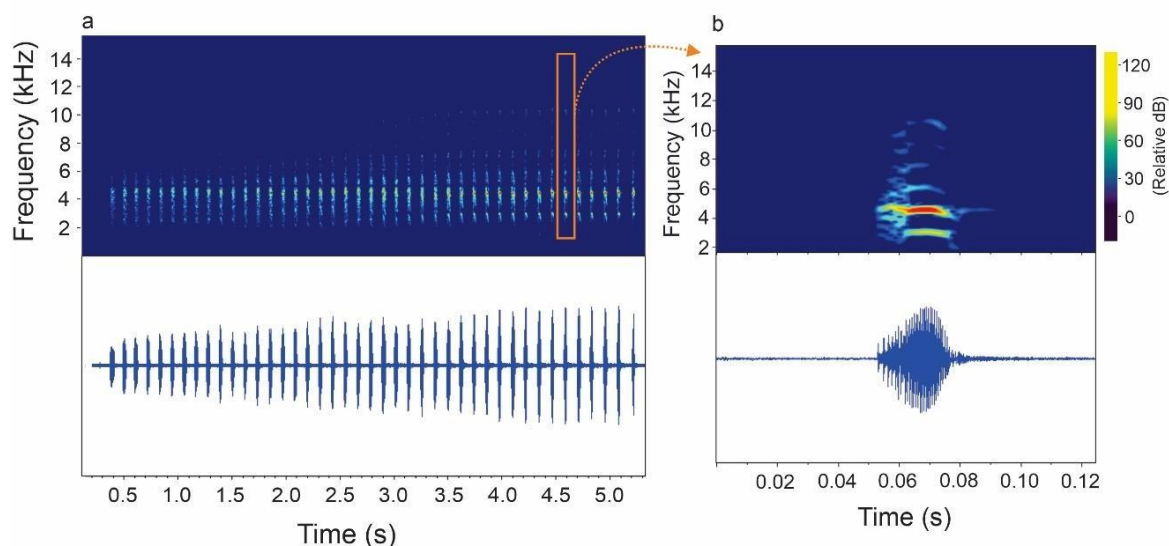
Nós utilizamos a abordagem de modelos lineares de efeitos mistos para entender o papel do tamanho do corpo, temperatura do ar, mediana do envelope de amplitude do ruído abiótico (MAEAN) e duração total de ruído biótico sobre as diferenças acústicas entre indivíduos por localidade. Para cada uma das 10 variáveis acústicas mensuradas nós criamos um modelo tendo as variáveis mencionadas acima como efeitos fixos e a localidade como fator aleatório (já que encontramos diferenças acústicas relevantes entre as populações), usando os pacotes *lmerTest* (Kuznetsova et al. 2017) e *lme4* (Bates et al. 2015) no software R 4.0.2 (R Core Team, 2020). A normalidade dos resíduos foi verificada graficamente através das funções *qqnorm* e *qqline*. Após criar os modelos, nós checamos individualmente os valores de verossimilhança máxima residual (REML) e as estimativas para cada efeito fixo, também conferindo sua significância para explicar a variação dos resíduos.

Resultados

Canto de anúncio: descrição e variabilidade em propriedades acústicas

O canto de anúncio de *Crossodactylus caramaschii* é composto por uma série de notas harmônicas (Fig. 1). Essa série de notas normalmente se apresenta com modularidade positiva de intensidade, sendo que as primeiras notas soam menos intensas do que as últimas notas da série. O tempo de chegada à amplitude máxima pode variar bastante, mesmo dentro de cantos do mesmo indivíduo (Tabela 1).

Fig. 1 a) Espectrograma e oscilograma do canto de anúncio (a) de *Crossodactylus caramaschii* de Eldorado (Localidade-tipo), destacando uma nota (b) da sequência presente no canto. Temperatura do ar: 23 C°, Umidade relativa do ar: 82 %; CRC: 26 mm.



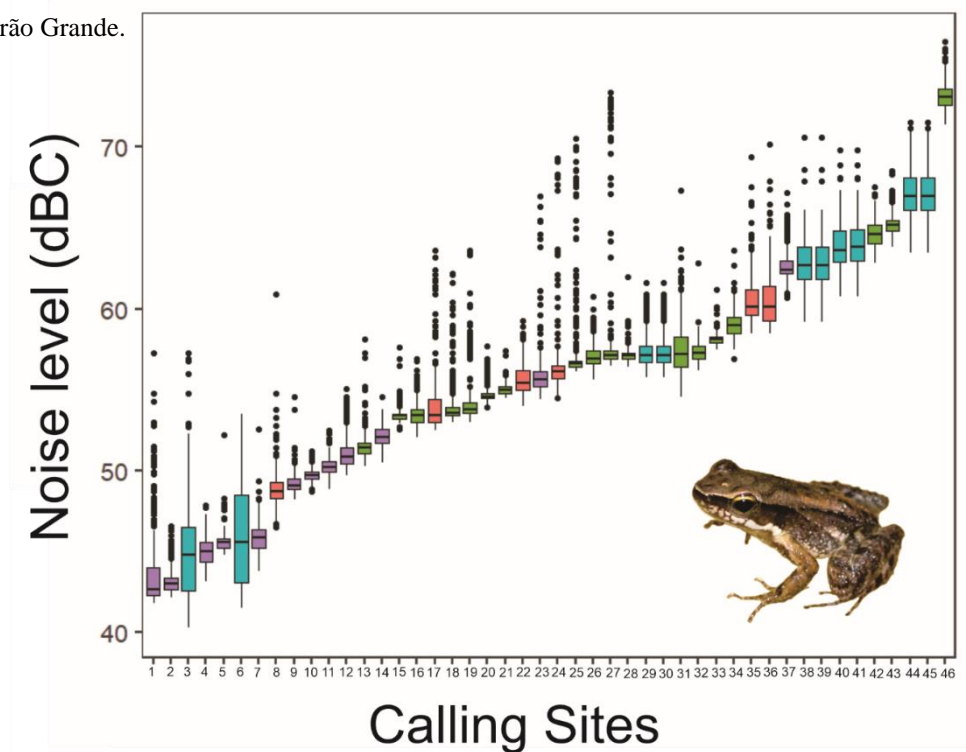
O canto de anúncio dos machos nas diferentes localidades diferiram em vários aspectos. Os machos de São Miguel de Arcanjo apresentaram cantos de anúncio com maior número de notas, maior duração e frequências mais altas comparado aos cantos de machos das outras localidades. A taxa de canto foi maior entre os machos de Iporanga, enquanto as frequências dominantes mais baixas foram relatadas nos cantos de machos de Eldorado, os quais também apresentaram cantos com amplitude espectral mais compactadas (Tabela 1).

Em todos os níveis avaliados, as propriedades acústicas temporais apresentaram maiores coeficientes de variação do que as propriedades espectrais (Tabela 2), exceto pela amplitude espectral que foi considerada uma variável dinâmica e o intervalo entre notas, que teve baixo coeficiente de variação. Exceto pela duração da nota, todas as propriedades acústicas variaram menos dentro de indivíduos do que entre indivíduos.

Nível real de ruído nos microhabitats de vocalização

O nível de pressão sonora sobre os machos de *Crossodactylus caramaschii* em seus microhabitats de vocalização teve média geral de 56.2 dBC e variou entre 40.3 e 76.5 dBC. A variação de ruído de um ponto ao outro foi relativamente semelhante entre as diferentes localidades (Fig. 2), embora em São Miguel Arcanjo foram relatados mais pontos com ruídos abaixo de 50 dBC, enquanto Ribeirão Grande concentrou o maior número de microhabitats de vocalização com média de ruído acima de 60 dBC.

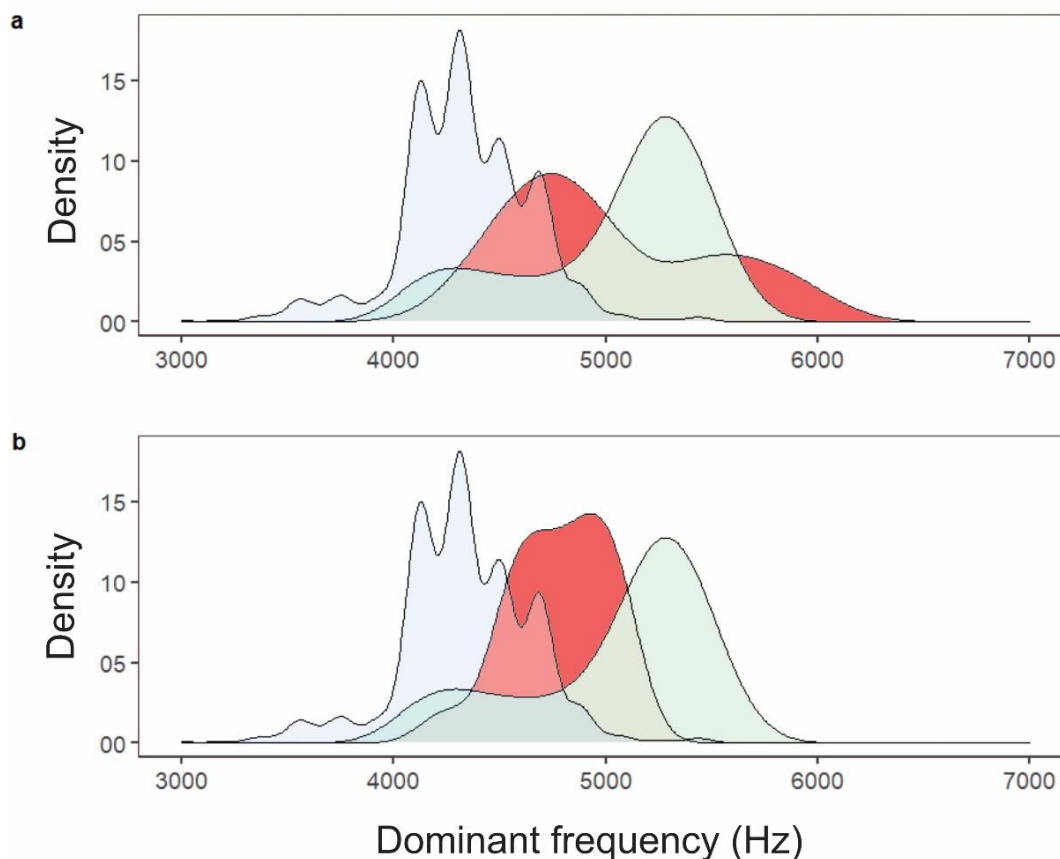
Fig. 2 Variação em nível de pressão sonora relatada em 46 microhabitats de vocalização de *Crossodactylus caramaschii* em 4 localidades do Sudeste do Brasil. SMA = São Miguel Arcanjo; IP = Iporanga; EL = Eldorado; e RG = Ribeirão Grande.



Sobreposição espectral com espécies sincrônicas

O canto de anúncio de *Crossodactylus caramaschi* teve sobreposição espectral com o canto de duas espécies de *Hylodes* relatadas de forma sincrônica em alguns riachos. No geral, o canto de anúncio de *Hylodes heyeri* teve maior sobreposição espectral com a vocalização de *C. caramaschii*, do que o canto de *Hylodes cardosoi* (52.8 ± 26.2 e 47.1 ± 19.1 % respectivamente). No entanto, não houve evidências de deslocamento de faixa de frequência em machos sincrônicos, já que os padrões de sobreposição foram similares entre situações de sincronia com competidores e quando competidores estavam ausentes (Fig. 3).

Fig. 3 Sobreposição espectral entre cantos de anúncio de *Crossodactylus caramaschii* e duas espécies de *Hylodes* em diferentes condições temporais de ocorrência: *Hylodes heyeri* (a); e *Hylodes cardosoi* (b).

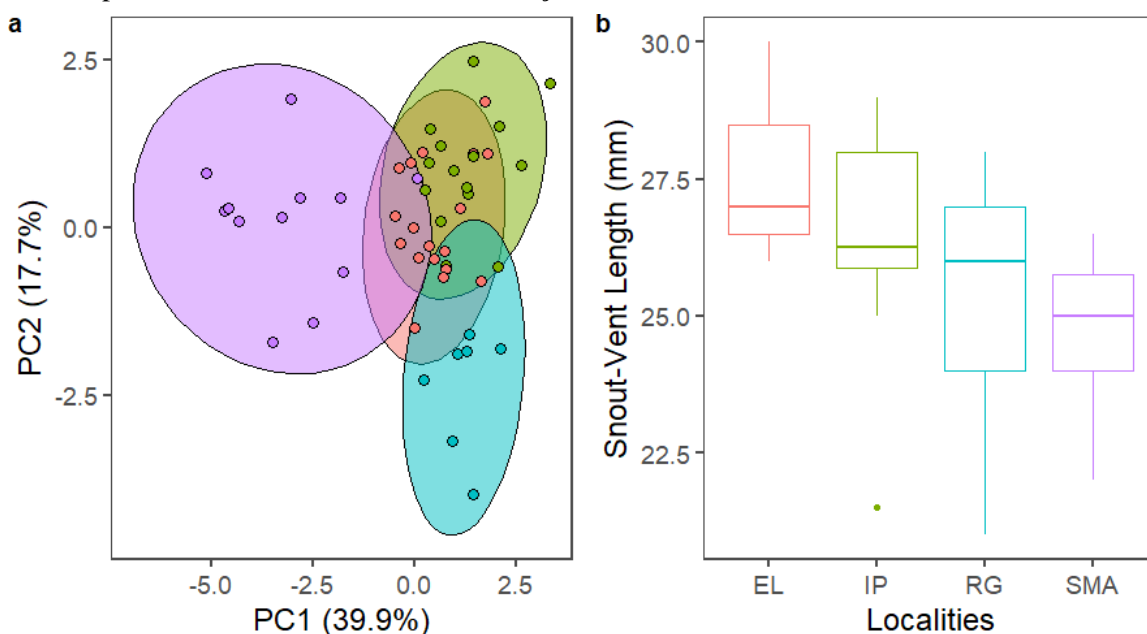


Estrutura geográfica em padrões acústicos

Nossa análise de componentes principais gerou 10 eixos para explicar toda variação nas propriedades acústicas (Recurso Online 2), sendo que a dimensão 1 e 2 explicaram conjuntamente 57,6% do total de variação. Com base na relação desses dois principais eixos notamos que as populações de São Miguel Arcanjo e Ribeirão Grande foram as que apresentaram diferenças mais notáveis (Fig. 4a). As propriedades acústicas que mais contribuíram para o padrão encontrado foram o número de notas e a frequência máxima (Recurso Online 3). O tamanho do corpo foi diferente entre as populações (Fig. 4b), sendo que os machos de São Miguel Arcanjo apresentaram comprimento rostro-cloacal mais curtos em relação aos machos de outras localidades. Essa diferença de tamanho de corpo parece ter relevância para explicar as diferenças acústicas entre as populações, uma vez que a

frequência máxima das vocalizações foi negativamente correlacionada com o comprimento rostro-cloacal dos indivíduos ($r = -0.33$, $p = 0.02$; $n = 47$).

Fig. 4 Distribuição de 52 machos *Crossodactylus caramaschii* obtidos a partir da PCA realizada com 10 propriedades acústicas; as localidades são sinalizadas por pontos coloridos: vermelho = Eldorado (localidade-tipo); verde = Iporanga; azul = Ribeirão Grande e roxo = São Miguel Arcanjo. As elipses foram representadas com intervalo de confiança de 95%.



Embora tenhamos encontrado um elevado coeficiente de correlação de matrizes, as dissimilaridades acústicas entre populações não foram dependentes da distância geográfica ($r = 0.903$; $p = 0.08$).

Diferenças acústicas entre indivíduos e o ambiente de vocalização

As diferenças interindividuais nas propriedades acústicas do canto de anúncio de *Crossodactylus caramaschii* teve forte dependência espacial, já que o fator aleatório de todos os modelos reteve uma grande parte da variação em relação aos resíduos. Embora o efeito da localidade seja muito forte, a análise de modelos mistos nos indicou que os fatores ambientais (temperatura e as duas modalidades de ruído de fundo) também parecem gerar ajustes em algumas propriedades acústicas do canto de anúncio de *C. caramaschii* (Tabela 3).

O tamanho do corpo não teve relação com as propriedades acústicas estudadas dentro das populações. No entanto, a duração do canto parece ter sido afetada pela temperatura do ar e pela MAEAN (Recurso Online 4a, b). Temperaturas mais altas foram convergentes com cantos menores, enquanto nos locais com maiores envelopes de amplitude de ruído abiótico, observamos machos emitindo cantos de anúncio mais longos. O nível de ruído abiótico também teve relação com a frequência mínima dos cantos, surpreendentemente, os cantos

mais graves foram observados quando a MAEAN era maior (Recurso Online 4c). A MAEAN também contribuiu significativamente ao modelo de amplitude espectral, sendo que machos apresentaram amplitudes de frequência mais largas em locais com maior MAEAN (Recurso Online 4d). Uma relação inversa foi registrada em ambientes com maior presença das vocalizações de competidores, uma vez que os machos de *C. caramaschii* apresentaram vocalizações com amplitudes de frequência mais compactadas em ambientes com maior duração de ruído biótico (Recurso Online 4e).

Discussão

Nossos resultados sugerem que maiores amplitudes de ruído constante podem implicar em machos emitindo sinais acústicos mais longos, uma evidência que reforça a hipótese de adaptação acústica (Ey e Fischer, 2009). Esse ajuste, dentro da variação natural da espécie, pode aumentar a probabilidade de detecção por receptores coespecíficos, já que o sinal permanece mais tempo disponível a cada emissão (Brumm e Slabbekoorn, 2005). Estudos anteriores com anfíbios já identificaram a preferência de fêmeas por cantos mais longos, inclusive associando essa característica à machos de boa qualidade genética (Welch et al. 1998; Gerhardt et al. 2000; Martínez-Rivera e Gerhardt, 2008). Esse ajuste, por tanto, parece ser uma estratégia adaptativa para o sinal ser melhor percebido e ter maior atratividade em situações com muito ruído de baixa frequência (Brumm et al. 2004; Brumm e Slabbekoorn, 2005).

Sendo animais ectotérmicos, os anfíbios são bastante impactados por fontes externas de calor em suas atividades comportamentais, especialmente considerando a produção de sinais acústicos (Wells, 2007). Dessa forma, já é bem conhecido que a temperatura tem um papel importante em influenciar propriedades acústicas das vocalizações (e.g. Lingnau e Bastos, 2007; Wang et al. 2012; Wei et al. 2019). Por um lado, supomos que os níveis constantes de ruído de fundo e a seleção sexual atuam para aumentar a duração das vocalizações, pelo outro o aumento da temperatura do ar parece implicar em redução na duração dos cantos. Assim, acreditamos haver um desafio ainda maior para os machos de *Crossodactylus caramaschii* se comunicarem de forma eficiente em ambientes com níveis altos de ruído quando a temperatura do ar é mais elevada.

Embora possamos pensar que a presença do ruído tenha efeito negativo para o emissor, Zhao et al. 2017, surpreendentemente, demonstraram através de experimentação que as fêmeas da espécie *Amolops torrentis*, uma espécie de rã típica de riachos na Ásia, tinham maior preferência por vocalizações de machos quando essas eram apresentadas com maior ruído do riacho. No estudo os autores sugerem que o ruído atua na seleção, sendo ele uma evidência da topografia e condições do habitat reprodutivo (Zhao et al. 2017). Essa é uma hipótese que ainda merece ser testada com a espécie desse estudo, já que encontramos substancial variação nos níveis de pressão sonora entre os microhabitats de vocalização e o canto de anúncio dos machos não sobrepõe espectralmente com o ruído de baixa frequência produzido pela corredeira. A detalhada caracterização acústica dos habitats de exibição nessa

espécie provida por esse estudo poderá ser importante para propor futuros trabalhos ecológicos com sapos que se comunicam em riachos.

Ao contrário do ruído de baixa frequência oriundo da corredeira, a vocalização de outras espécies com relações filogenéticas próximas no mesmo habitat apresentou substancial conflito espectral, e quanto maior a duração desse ruído heteroespecífico no ambiente, menor foi a amplitude espectral das vocalizações dos machos de *C. caramaschii*. A evolução sintópica dessas espécies pode ter levado a uma segregação de frequências dominantes nos cantos e colocado a frequência dominante do canto de *C. caramaschii* entre as outras duas espécies (Fig. 3). No entanto, este ajuste não resolve completamente o problema de mascaramento e a presença da competição acústica (ou seja, canto de indivíduos das duas espécies de hylodes). A sobreposição também parece reduzir a variação da frequência dominante nas chamadas de *C. caramaschii*, diminuindo assim a sobreposição na faixa de frequência que concentra mais energia.

Essa concentração de energia em uma faixa de frequência mais estreita pode ser uma estratégia para amplificar a percepção do sinal por coespecíficos, uma vez que a energia fica retida nas frequências de maior sensibilidade auditiva da espécie. Essa suposição é suportada pelo fato de que os anuros têm melhores respostas auditivas em faixas de frequência que correspondem a frequência dominante da vocalização da própria espécie (Gerhardt e Schwartz, 2001; Fan et al. 2019). Dessa forma, concentrar a energia em faixas de frequência mais específicas pode ser uma maneira eficiente de contornar problemas de mascaramento com ruídos intermitentes e, talvez ampliar a indução auditiva (reconstrução da informação mascarada) (Bee, 2012).

Ajustes de curto prazo em sinais acústicos são possíveis devido à flexibilidade fenotípica dos indivíduos, a qual permite uma forte conexão entre atributos da vocalização e características do ambiente de propagação do sinal (Ziegler et al. 2011). Nesse contexto, a amplitude espectral dos cantos de anúncio de *C. caramaschii* se mostrou especialmente variável, atingindo valores altos de coeficiente de variação. Embora os anuros tenham capacidade de perceber mudanças espectrais em sinais acústicos (Simmons et al. 2007), o papel biológico da amplitude espectral, assim como os elementos harmônicos do canto de anúncio é ainda pouco compreendido (Köhler et al. 2017; Foratto et al. in press). Em nosso estudo, a amplitude espectral foi considerada uma propriedade acústica dinâmica e é, provavelmente, passível de ajuste por machos de *C. caramaschii*. Futuros testes de playback variando a apresentação do nível de ruído conflitante e intermitente poderiam ajudar a

elucidar essa hipótese, inclusive revelar a capacidade de alteração de frequências diante dos diferentes desafios do ambiente.

De forma geral, e como já esperado, a variação interindividual em propriedades do canto de anúncio em *C. caramaschii* foi mais alta do que a variação encontrada em nível intraindividual (exceto para duração da nota), e esse padrão generalizado é encontrado em muitas outras espécies de anuros (Forti et al. 2010; Kaefer e Lima, 2012; Forti et al. 2015; 2016; Oitaven et al. 2017; Forti et al. 2017; Röhr et al. 2020). A seleção sexual tem sido apontada como um importante fator que promove essa variação interindividual dentro de populações (Wells e Schwartz, 2007). Porém, em nosso trabalho também notamos que as diferenças acústicas geográficas, a qual parece ser dependente do tamanho do corpo dos indivíduos, provavelmente adiciona variação à muitas dessas propriedades. Entender o padrão dessas variações não só é importante para encontrar os limites taxonômicos da espécie, como é útil para explicar o papel da variação em condições espaciais sobre as características acústica desses sinais.

Nosso trabalho apresentou importantes contribuições sobre possíveis formas com que os animais podem superar os limites ambientais para ter sucesso no processo de comunicação intraespecífica. Além disso, nós adicionamos mais evidências sobre a hipótese de adaptação acústica em anfíbios Neotropicais e trouxemos novas perspectivas para futuros trabalhos, visando aumentar nossa compreensão sobre o papel do ambiente na modelação de sinais acústicos.

Considerações finais

O crescimento da quantidade de dados sobre estudos bioacústicos de insetos, peixes, anuros, pássaros e mamíferos, incluindo humanos, permite comparações cada vez mais detalhadas de estratégias comportamentais e fisiológicas relacionadas a produção e percepção de sinais acústicos sob condições de ruído. Animais podem sofrer pressões seletivas a nível evolutivo para adaptar seus sinais para superar os limites que são impostos pelo ambiente. No entanto, a plasticidade fenotípica na produção de sinais também permite que pequenos ajustes também possam ocorrer em curto prazo em respostas à mudança da condição do ruído. A literatura tem demonstrado que as propriedades acústicas do ambiente afetam tanto a estrutura, quanto eficiência da transmissão de sinais acústicos e por isso sugerimos que esse tema ainda deva ser amplamente estudado. Existem diversas estratégias adotadas por animais para lidar com problemas de ruídos naturais e antrópicos, uma das mais utilizadas é o aumento da intensidade das vocalizações, conhecido como *efeito Lombard*. Anfíbios que compartilham habitat reprodutivos em comum e sofrem o efeito de coros heteroespecíficos, normalmente organizam a emissão de seus sinais. O fato de termos encontrado grande variação nos níveis de pressão sonora entre os microhabitats de *Crossodactylus caramaschii*, e que o canto de anúncio dos machos não sobrepõe espectralmente com ruído produzido pela corredeira, nos instiga a entender melhor o papel do ruído natural do ambiente na seleção sexual. Nosso trabalho apresenta contribuições sobre como os animais podem superar os limites de ambientes ruidosos para ter sucesso na transmissão de sinais acústicos e sobre possíveis formas com que os animais podem superar os limites ambientais para ter sucesso no processo de comunicação intraespecífica. Além disso, apresentamos mais evidências sobre a hipótese de adaptação acústica em anfíbios e uma descrição mais detalhada da vocalização do *C. caramaschii*. Para elucidar se a amplitude espectral é uma propriedade passível de ajuste por machos de *C. caramaschii*, sugerimos testes de playback variando a apresentação do nível de ruído conflitante e intermitente poderiam ajudar a elucidar essa hipótese.

Agradecimentos Agradecemos a Edna Paulino Alcantara, Raquel Salla, Joice Ruggeri e Cristiana Ferreira da Silva pelo auxílio no trabalho de campo.

Declarações

Financiamento

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES - Código Financeiro 001), e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelas bolsas nº 309125 / 2017-0 e nº 300896 / 2016-6 e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) para as bolsas nº 2016 / 25358-3 e nº 2019 / 18335-5.

Conflitos de interesse / interesses concorrentes (incluir divulgações apropriadas)

Os autores não têm conflitos a declarar.

Aprovação de ética (inclua aprovações ou isenções apropriadas)

Os indivíduos foram coletados sob permissão (licença ICMBio # 57611-2).

Disponibilidade de dados e materiais (transparência de dados)

Todos os arquivos de áudio utilizadas nesta pesquisa estão disponíveis mediante solicitação, podendo ser consultados no seguinte repositório acústico:

<http://fonotropica.ufba.br/plataforma.php>

O conjunto de dados está disponível em: 10.5281 / zenodo.4268815

Contribuição dos autores: LRF e MRS conceberam e projetaram o experimento. LRF, MRS e CRP coletaram os dados, LRF, CRP e MRS realizaram o gerenciamento de dados, LRF e MRS analisaram os dados. AJT, CR, SSW escreveram o manuscrito; JKS e LFT editaram e revisaram o manuscrito, LRF e LFT garantiram financiamento.

Referências

- Audacity Team (2020). Audacity(R): Free Audio Editor and Recorder [Computer application]. Version 2.4.2 retrieved 20 September, 2020 from <https://audacityteam.org/>
- Barber JR, Crooks KR, Fristrup KM (2010) The costs of chronic noise exposure for terrestrial organisms. *Biofísica*, p180–189
- Bastos, R. P., & Pombal Jr, J. P. (1995). New species of *Crossodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the Atlantic rain forest of southeastern Brazil. *Copeia*, 436-439.
- Bates DM, Mäechler M, Bolker B, Walker S (2015) Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67:1 1–48. <https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01>
- Beckers GJL, Suthers RA, Cate C (2003) Mechanisms of frequency and amplitude modulation in ring dove song. *Journal of Experimental Biology*, 206, 1833e1843
- Bee MA (2012) Sound source perception in anuran amphibians. *Curr. Opin. Neurobiol.* 22:301–10
- Blumstein DT, Fernandez-Juricic E (2010) Acoustic Communication and Conservation. In: *A primer of conservation Behavior*. Massachusetts: Sinauer Associates Incorporated 115-132
- Boncoraglio G, Saino N (2007) Habitat structure and the evolution of bird song: a metaanalysis of the evidence for the acoustic adaptation hypothesis. *Functional Ecology*, v. 21, n. 1, p. 134-142
- Both C, Grant T (2012). *Biological invasions and the acoustic niche: the effect of bullfrog*
- Bradbury JW, Vehrencamp SL (2011) *Principles of animal communication*. 2nd edn. Sinauer Associates, Sunderland.
- Brumm H (2013) *Animal communication and noise*. Vol 2. Springer Science & Business Media
- Brumm H, Slabbekoorn H (2005) Acoustic communication in noise. *Adv. Study Behav.* 35:151–209. [https://doi.org/10.1016/S0065-3454\(05\)35004-2](https://doi.org/10.1016/S0065-3454(05)35004-2)
- Brumm H, Vos K, Kollmer I, Todt D (2004) Acoustic communication in noise: Regulation of call characteristics in a New World monkey. *J. Exp. Biol.* 207:443–448. <https://doi.org/10.1242/jeb.00768>
- Brumm H, Naguib M (2009). Environmental acoustics and the evolution of bird song. *Advances in the Study of Behavior*, 40, 1-33.
- calls on the acoustic signals of white-banded tree frogs. *Biology Letters*, 8(5), 714-716.

- Center for Conservation Bioacoustics (2011) Raven Pro: Interactive Sound Analysis Software (Version 1.4) [Computer software]. Ithaca, NY: The Cornell Lab of Ornithology. Available from <http://ravensoundsoftware.com/>
- Cunnington GM, Fahrig L (2010) Plasticity in the vocalizations of anurans in response to traffic noise. *Acta Oecologica* 36, 463–470
- Ey E, Fischer J (2009). The “acoustic adaptation hypothesis”—a review of the evidence from birds, anurans and mammals. *Bioacoustics*, 19(1-2), 21-48.
- Fan Y et al (2019). Preference of spectral features in auditory processing for advertisement calls in the music frogs. *Frontiers in Zoology*, 16(1), 13.
- Farina A et al (2011) Avian soundscapes and cognitive landscapes: theory, application and ecological perspectives. *Landscape Ecol*
- Feng AS, Narins PM, Xu CH (2002) Vocal acrobatics in a Chinese frog, *Amolops tormotus*. *Naturwissenschaften* 89: 352–356. <https://doi.org/10.1007/s00114-002-0335-x>
- Feng AS et al (2006) Ultrasonic communication in frogs. *Nature*, 440(7082), pp. 333-336.
- Foratto R et al (in press) Territorial treefrog adjust spectral properties of vocal response to harmonics in intruder calls. *Behav. Ecol*.
- Forrest TG (1994) From sender to receiver: propagation and environmental effects on acoustic signals. *Am. Zool.* 34: 644–654. <https://doi.org/10.1093/icb/34.6.644>
- Forti LR, Lingnau R, Bertoluci J (2017b) Acoustic variation in the advertisement call of the Lime treefrog *Sphaenorhynchus caramaschii* (Anura: Hylidae). *Vertebr. Zool.* 67: 197–205
- Forti LR, Márquez R, Bertoluci J (2015) Advertisement call of *Dendropsophus microps* (Anura: Hylidae) from two populations from southeastern Brazil. *Zool.* 32: 187–194. <https://doi.org/10.1590/S1984-46702015000300002>
- Forti LR, Strüssmann C, Mott T (2010) Acoustic communication and vocalization microhabitat in *Ameerega braccata* (Steindachner, 1864) (Anura, Dendrobatidae) from Midwestern Brazil. *Brazilian J. Biol.* 70:211–216. <https://doi.org/10.1590/S1519-69842010000100029>
- Forti L et al(2016). Advertisement call and genetic structure conservatism: good news for an endangered Neotropical frog. *PeerJ*, 4, e2014
- Forti LR et al (2017a) Can treefrog phylogeographical clades and species’ phylogenetic topologies be recovered by bioacoustical analyses? *PloS one*, 12(2), e0169911.
- Frost DR (2020) *Amphibian Species of the World 6.0*. American Museum of Natural History, New York, USA. Online Reference: <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>.

- Gerhardt HC, Schwartz JJ (2001) Auditory tuning and frequency preferences in anurans. In: Ryan MJ (eds) Anuran communication. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, pp 73-85
- Gerhardt HC, Huber F (2002) Acoustic communication in insects and frogs: common problems and diverse solutions. University of Chicago Press. Chicago <https://doi.org/10.1121/1.1591773>
- Gerhardt HC (1991) Female mate choice in treefrogs: static and dynamic acoustic criteria. *Animal Behaviour*, 42(4), 615-635
- Gerhardt HC (2000) Female preference functions based on call duration in the gray tree frog (*Hyla versicolor*). *Behavioral Ecology*, 11(6), 663-669
- Giacoma C, Castellano S (2001) Adversiment Call Variation and Speciation in the *Bufo viridiscmplex*. In: RYAN, M. J. Anuran Communication. [S.l.]: Smithsonian Institution Press, v. ISBN 1-56098-973-4, 2001. p. 205-220
- Gingras B et al (2013) Call acoustics reflect body size across four clades of anurans. *J. Zool.* 289:143-150. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7998.2012.00973.x>
- Goodenough J, McGuire B, Jakob E (2009) Perspectives on animal behavior. John Wiley & Sons
- Goutte S et al (2018) How the environment shapes animal signals: a test of the acoustic adaptation hypothesis in frogs. *Journal of evolutionary biology*, 31(1), pp.148-158.
- Guerra V (2018) The advertisement calls of Brazilian anurans: Historical review, current knowledge and future directions. *PloS one*, 13(1), e0191691
- Halfwerk W (2016) Vocal responses to noise reveal the presence of the Lombard effect in a frog. *Behavioral Ecology* 27, no. 2 669-676
- Halfwerk W (2019) Adaptive changes in sexual signalling in response to urbanization. *Nature ecology & evolution*, 3(3), pp.374-380
- Hotchkin, C, Parks S (2013). The Lombard effect and other noise-induced vocal modifications: insight from mammalian communication systems. *Biological Reviews*, 88(4), 809-824
- Jansen M, Plath M, Brusquetti F, Ryan M (2016) Asymmetric frequency shift in advertisement calls of sympatric frogs. *Amphibia-Reptilia*, 37: 137–152. <https://doi.org/10.1163/15685381-00003038>

- Kaefer IL, Lima AP (2012) Sexual signals of the Amazonian frog *Allobates paleovarzensis*: geographic variation and stereotypy of acoustic traits. *Behav.* 149:15–33. <https://doi.org/10.1163/156853912X623757>
- Kassambara A, Mundt F (2020) factoextra: Extract and Visualize the Results of Multivariate Data Analyses, <https://CRAN.R-project.org/package=factoextra>, R package version 1.0.7
- Köhler J et al (2017) The use of bioacoustics in anuran taxonomy: theory, terminology, methods and recommendations for best practice. *Zootaxa* 4251:1–124
- Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB (2017) lmerTest Package: Tests in Linear Mixed Effects Models. *J. Statistical Software* 82:13 1-26
- Lê S, Josse J, Husson F (2008) FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software* 25:1-18. <https://doi.org/10.18637/jss.v025.i01>
- Ligges, Uwe, Sebastian Krey, Olaf Mersmann, and Sarah Schnackenberg (2018) "tuneR: analysis of music and speech." R package version 1, no. 3
- Lingnau R, Bastos RP (2007) Vocalizations of the Brazilian torrent frog *Hylodes heyeri* (Anura: Hylodidae): Repertoire and influence of air temperature on advertisement call variation. *J. Nat. Hist.* 41: 1227–1235. <https://doi.org/10.1080/00222930701395626>
- Lohr B, Wright TF, Dooling RJ (2003) Detection and discrimination of natural calls in masking noise by birds: estimating the active space of a signal. — *Anim. Behav.* 65: 763-777
- Lopez PT et al (1988) Acoustically induced modification in the white-lipped frog. *Leptodactylus albilabris*. *Animal Behaviour*. v. 36, p. 1295-1308
- Luther D, Gentry K (2013) Sources of background noise and their influence on vertebrate acoustic communication. *Behav.* 150:1045–1068. <https://doi.org/10.1163/1568539X-00003054>
- Manabe K, Sadr EI, Dooling RJ (1998) Control of vocal intensity in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*): differential reinforcement of vocal intensity and the Lombard effect. *Journal of the Acoustical Society of America*. v.103, n. 2, p. 1190–1198
- Martínez-Rivera CC, Gerhardt HC (2008) Advertisement-call modification, male competition, and female preference in the bird-voiced treefrog *Hyla avivoca*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 63:195–208. <https://doi.org/10.1007/s00265-008-0650-0>
- Murphy CG (2003) The cause of correlations between nightly numbers of male and female barking treefrogs (*Hyla gratiosa*) attending choruses. *Behav. Ecol.* 14:274–281. <https://doi.org/10.1093/beheco/14.2.274>

- Naguib M (2003) Reverberation of rapid and slow trills: implications for signal adaptations to long range communication. — J. Acoust. Soc. Am. 133: 1749-1756
- Narins PM et al (2004) Old World frog and bird vocalizations contain prominent ultrasonic harmonics. The Journal of the Acoustical Society of America, 115(2), pp.910-913
- Oitaven LPC (2017) Description of vocalizations and Analysis of variation intra and inter-individual of *Pristimantis ramagii* (Boulenger, 1888) in an upland swamp, Northeast Brazil. Herpetology Notes, 10, pp.197-203
- Oksanen JFG (2019) vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-6
- Parris KM (2002) More bang for your buck: The effect of caller position, habitat and chorus noise on the efficiency of calling in the spring peeper. Ecol. Modell. 156(2–3):213–24
- Parris KM et al (2009) Frogs call at a higher pitch in traffic noise. Ecology and Society 14
- Pijanowski BC et al (2011) What is soundscape ecology? An introduction and overview of an emerging new science. Landscape Ecol, 01 May 2011. 1213–1232
- Pombal JR JP (2010) O espaço acústico em uma taxocenose de anuros (Amphibia) do Sudeste do Brasil. Arq. Mus. Nac. 68(1-2):135-144
- Potvin DA, Mulder RA (2013) Immediate, independent adjustment of call pitch and amplitude in response to varying background noise by silvereyes (*Zosterops lateralis*). Behavioral Ecology, 24(6), pp.1363-1368
- R Core Development Team (2019) R: A language and environment for statistical computing. (Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>)
- Reichert MS, Gerhardt HC (2013) Gray treefrogs, *Hyla versicolor*, give lower-frequency aggressive calls in more escalated contests. Behav. Ecol. Sociobiol. 67:795–804.
<https://doi.org/10.1007/s00265-013-1503-z>
- Reijnen R et al (1995) The effects of car traffic on breeding bird populations in woodland. III. Reduction of density in relation to the proximity of main roads. Journal of Applied ecology, pp.187-202
- Richards DG, Wiley RH (1980) Reverberations and amplitude fluctuations in the propagation of sound in a forest: implications for animal communications. — Am. Nat. 115: 381-399
- Roca IT et al (2016) Shifting song frequencies in response to anthropogenic noise: a meta-analysis on birds and anurans. Behavioral Ecology, 27(5), pp.1269-1274
- Röhr DL (2020) Variability in anuran advertisement call: a multi-level study with 15 species of monkey tree frogs (Anura, Phyllomedusidae), Canadian Journal of Zoology, 98:495–504

- Rothstein SI, Fleischer RC (1987) Vocal dialects and their possible relation to honest statussignalling in the brown-headed cowbird. *Condor* 89:1–23
- Shen JX, Xu ZM (2016) The Lombard effect in male ultrasonic frogs: Regulating antiphonal signal frequency and amplitude in noise. *Scientific reports*, 6, 27103
- Simmons D, Meenderik S, Vassilakis P (2007) Anatomy, physiology, and function of auditory end-organs in the frog inner ear. In: Narins PM, Feng AS, Fay RR, Popper AN (eds) *Hearing and Sound Communication in Amphibians*. Springer, New York pp 184–220
- Slabbekoorn H, Peet M. (2003) Ecology: birds sing at a higher pitch in urban noise: great tits hit the high notes to ensure that their mating calls are heard above the city's din. *Nature*, 424, 267
- Snijders L, Naguib M (2017) Communication in animal social networks: a missing link? *Adv. Study Behav.* 49:297-359. <http://dx.doi.org/10.1016/bs.asb.2017.02.004>
- Sueur J, Aubin T, Simonis C (2008) Seewave: a free modular tool for sound analysis and synthesis. *Bioacoustics*, 18, 213-226.
- Sun JWC, Narins PA (2005) Anthropogenic sounds differentially affect amphibian call rate. *Biological Conservation*, 121, 419e427
- Taylor A M, Charlton BD, Reby D (2016) Vocal production by terrestrial mammals: Source, filter, and function. In: *Vertebrate Sound Production and Acoustic Communication* (ed. R. A. Suthers, W. T. Fitch, R. R. Fay and A. N. Popper) 229-260. Cham, Heidelberg, New York, Dordrecht, London: Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-27721-9_8
- Tonini, JFR et al (2020) Allometric escape from acoustic constraints is rare for frog calls. *Ecology and Evolution*, 10(8), pp.3686-3695
- Vasconcelos TS, Rossa-feres DC (2008) Habitat heterogeneity and use of physical and acoustic space in anuran communities in southeastern Brazil. *Phyllomedusa* 7 (2): 127-142
- Velásquez NA et al (2018) The acoustic adaptation hypothesis in a widely distributed South American frog: Southernmost signals propagate better. *Scientific reports*, 8(1), pp.1-12
- Vélez A, Schwartz JJ, Bee MA (2013) Anuran acoustic signal perception in noisy environments. In *Animal communication and noise* (pp. 133-185). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Vielliard JME, Silva ML (2006) *A Bioacústica como ferramenta de pesquisa em Comportamento animal*
- Wang JC (2012) Effects of body size and environmental factors on the acoustic structure and temporal rhythm of calls in *Rhacophorus dennysi*. *Asian Herpetol Res*, 3(3), pp.205-212.

- Warren PS, Madhusudankatti ME (2006) Urban bioacoustics: it's not just noise. *Animal Behaviour*, March 2006. 491-502
- Wei L et al (2019) Individual variation in advertisement calls of the pale-shouldered horned toad (*Xenophrys boettgeri*). *Acta Ethologica*, 22(3), pp.187-193
- Welch AM, Semlitsch RD, Gerhardt HC (1998) Call duration as an indicator of genetic quality in male gray tree frogs. *Sci.* 280:1928–30. <https://doi.org/10.1126/science.280.5371.1928>
- Wells KD (2007) *The Ecology and Behavior of Amphibians*. Chicago and London: The University of Chicago Press
- Wells KD, Schwartz JJ (2007) The behavioral ecology of anuran communication. In: Narins PM, Feng AS, Fay RR, Popper AN (eds.) *Hearing and Sound Communication in Amphibians*. Springer, New York, USA, 44–85. https://doi.org/10.1007/978-0-387-47796-1_3
- Wiley RH, Richards DG (1978) Physical constraints on acoustic communication in the atmosphere: implications for the evolution of animal vocalizations. — *Behav. Ecol. Sociobiol.* 3: 69-94
- Wiley, R.H. (2013) Signal detection, noise, and the evolution of communication. In: Brumm, H. (ed) *Animal communication and noise* (pp. 7-30). Springer, Berlin, Heidelberg. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-642-41494-7_2
- Wilkins MR (2013) Evolutionary divergence in acoustic signals: causes and consequences. *Trends in Ecology & Evolution*, 28(3), pp.156-166
- Witte K et al (2005) How cricket frog females deal with a noisy world: habitat-related differences in auditory tuning, *Behavioral Ecology* 16(3):571-579
- Wood WE, Yezerinac SM (2006) Song sparrow (*Melospiza melodia*) song varies with urban noise. *Auk*, 123, 650e659
- Zhao L (2017) Sometimes noise is beneficial: stream noise informs vocal communication in the little torrent frog *Amolops torrentis*. *Journal of Ethology*, 35(3), pp.259-267.
- Ziegler L, Arim M, Narins PM (2011) Linking amphibian call structure to the environment: the interplay between phenotypic flexibility and individual attributes. *Behav. Ecol.* 22:3 520–526. <https://doi.org/10.1093/beheco/arr011>

Tab 1 Propriedades acústicas do canto de anúncio de *Crossodactylus caramaschii*. Valores são apresentados como média \pm desvio padrão (amplitude) para a espécie e as populações em 4 localidades na região sudeste do Brasil.

Propriedades acústicas	Overall	São Miguel Arcanjo	Ribeirão Grande	Iporanga	Eldorado
Duração do canto (s)	4.76 \pm 1.38 (1.741–7.918)	6.34 \pm 0.98 (4.882–7.918)	3.71 \pm 1.54 (3.70–7.79)	3.98 \pm 1.10 (1.741–6.01)	4.69 \pm 0.89 (2.19–6.445)
Taxa do canto (calls/min)	1.02 \pm 0.55 (0.06–3.33)	0.62 \pm 0.38 (0.06–1.26)	0.93 \pm 0.32 (0.6–3.33)	1.27 \pm 0.67 (0.4–3.33)	1.10 \pm 0.46 (0.4–1.73)
Intervalo entre notas (s)	0.06 \pm 0.01 (0.040–0.092)	0.05 \pm 0.007 (0.038–0.063)	0.08 \pm 0.007 (0.05–0.09)	0.06 \pm 0.005 (0.052–0.068)	0.05 \pm 0.005 (0.046–0.072)
Duração da nota (s)	0.04 \pm 0.007 (0.034–0.071)	0.04 \pm 0.003 (0.036–0.046)	0.06 \pm 0.005 (0.057–0.071)	0.04 \pm 0.004 (0.034–0.050)	0.04 \pm 0.005 (0.037–0.056)
Número de notas	46.9 \pm 16.9 (16.77–87.55)	71.8 \pm 10.4 (56.75–87.55)	37.95 \pm 5.11 (32.19–44.64)	32.9 \pm 7.6 (16.77–53.53)	45.2 \pm 8.85 (22–62.12)
Tempo de chegada até amplitude máxima (s)	3.77 \pm 0.98 (1.174–5.579)	4.59 \pm 0.61 (3.44–5.579)	4.83 \pm 0.67 (4.05–5.56)	2.78 \pm 0.68 (1.174–3.898)	3.81 \pm 0.62 (2.040–4.934)
Frequência dominante (kHz)	4.9 \pm 0.4 (3.5–5.9)	5.4 \pm 0.3 (4.5–5.9)	4.7 \pm 0.2 (4.577–5.836)	4.7 \pm 0.2 (4.3–5.0)	4.6 \pm 0.3 (3.5–5.0)
Amplitude espectral (kHz)	2.1 \pm 0.9 (0.4–5.7)	2.9 \pm 1.2 (1.3–5.7)	2.0 \pm 0.4 (1.5–4.4)	1.9 \pm 0.9 (0.4–4.4)	1.7 \pm 0.5 (0.7–3.3)
Frequência máxima (kHz)	5.6 \pm 0.9 (4.0–9.3)	6.8 \pm 1.2 (4.8–9.3)	5.4 \pm 0.5 (4.9–7.9)	5.4 \pm 0.4 (4.6–6.2)	5.2 \pm 0.6 (4.0–6.8)
Frequência mínima (kHz)	3.3 \pm 0.6 (1.3–4.7)	3.9 \pm 0.6 (2.1–4.5)	3.6 \pm 0.3 (3.2–4.5)	3.4 \pm 0.7 (1.3–4.7)	3.5 \pm 0.4 (2.5–4.0)

Tab 2 Coeficientes de variação (CV%) dentro e entre machos e dentro de populações das propriedades acústicas do canto de anúncio de *Crossodactylus caramaschii*.

Propriedades acústicas	CV within-males	Classificação	Tipo	CV between-males	CV within-populations
Duração do canto	28 ± 6 (2.42–382)	Temporal	Intermediária	29	25 ± 11 (15.48– 41.50)
Taxa do canto	21 ± 11 (3.22–52.06)	Temporal	Dinâmica	54	47 ± 11 (34.49–61.70)
Intervalo entre notas	4 ± 1.8 (0–9.64)	Temporal	Estática	18	10 ± 3 (8.20 – 14.67)
Duração da nota	8 ± 3 (0–20)	Temporal	Dinâmica	17	9 ± 1 (8.36–11.23)
Número de notas	16 ± 10 (1.66–53.35)	Temporal	Dinâmica	36	17 ± 4 (13.45–23.05)
Tempo de chegada até amplitude máxima	22 ± 12 (3.62–53.91)	Temporal	Dinâmica	26	17 ± 5 (13.34–24.68)
Amplitude espectral	26 ± 18 (1.86 – 82.24)	Spectral	Dinâmica	46	37 ± 11 (23.71–48.76)
Frequência dominante	3 ± 4 (0.51–27.82)	Spectral	Estática	9	5.9 ± 1 (4.48–7.44)
Frequência máxima	4 ± 3 (0–13.81)	Spectral	Estática	16	11 ± 4 (7.49–17.83)
Frequência mínima	9 ± 8 (0.53–41.79)	Spectral	Intermediária	16	14 ± 5 (8.34–20.65)

Tab 3 Resultado e estimativa dos modelos lineares de efeitos mistos para cada propriedade acústica da vocalização de *Crossodactylus caramaschii* sobre influência de quatro variáveis de efeitos fixos controlados por localidade (efeito aleatório).

Acoustic properties (sample size)	Random factor (Local) SD	Residual SD	REML - value	Estimates and p-values				
				Intercept	Temperatura do ar	MANAE	Duração ruído biótico	Tamanho do corpo
Duração do canto (n = 49)	0.9084	0.7321	123.2	4.8697 (p = 0.002)**	-0.6112 (p = 0.0001)**	0.4015 (p = 0.014)*	0.2258 (p = 0.091)	-0.2637 (p = 0.081)
Taxa do canto (n = 49)	0.1733	0.5248	88.2	1.02880 (p = 0.007)**	0.08151 (p = 0.420)	0.10379 (p = 0.344)	0.14099 (p = 0.120)	-0.04209 (p = 0.674)
Intervalo entre notas (n = 48)	0.016939	0.006131	-286.3	0.0645882 (p = 0.005)**	-0.0018077 (p = 0.168)	-0.0020654 (p = 0.201)	0.0008977 (p = 0.425)	0.0017791 (p = 0.162)
Duração de notas (n = 49)	0.010337	0.004911	-314.2	0.0492164 (p = 0.002)**	-0.0003949 (p = 0.694)	0.0010315 (p = 0.336)	-0.0004280 (p = 0.629)	0.0006279 (p = 0.532)
Número de notas (n = 49)	19.080	7.425	331.2	48.4948 (p = 0.015)*	-0.3696 (p = 0.808)	3.1468 (p = 0.056)	2.1986 (p = 0.107)	0.1374 (p = 0.928)
Tempo de chegada até amplitude máxima (n = 49)	0.9913	0.6148	109.3	4.068010 (p = 0.004)**	-0.012296 (p = 0.921)	-0.007186 (p = 0.957)	0.151438 (p = 0.176)	0.089993 (p = 0.473)
Amplitude spectral (n = 49)	554.7	832.9	739.3	2173.046 (p = 0.009)**	90.354 (p = 0.586)	365.382 (p = 0.044)*	-388.975 (p = 0.010)*	128.991 (p = 0.436)
Frequência dominante (n = 49)	383.6	282.8	647.9	4927.474 (p = 0.0001)***	39.086 (p = 0.498)	-14.267 (p = 0.815)	-24.984 (p = 0.623)	24.664 (p = 0.668)

Frequência máxima (n = 48)	510.7	594.7	695.1	5622.807 (p = 0.0005)***	86.091 (p = 0.475)	16.544 (p = 0.897)	-197.212 (p = 0.068)	-18.061 (p = 0.881)
Frequência mínima (n = 48)	0	501.7	672.7	3585.0 (p < 2e-16)***	59.2765 (p = 0.539)	-270.44 (p = 0.026)*	95.40 (p = 0.242)	-70.24 (p = 0.435)

* p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001

Fig. 1 a) Espectrograma e oscilograma do canto de anúncio (a) de *Crossodactylus caramaschii* de Eldorado (Localidade-tipo), destacando uma nota (b) da sequência presente no canto. Temperatura do ar: 23 C°, Umidade relativa do ar: 82 %; CRC: 26 mm.

Fig. 2 Variação em nível de pressão sonora relatada em 46 microhabitats de vocalização de *Crossodactylus caramaschii* em 4 localidades do Sudeste do Brasil. SMA = São Miguel Arcanjo; IP = Iporanga; EL = Eldorado; e RG = Ribeirão Grande.

Fig. 3 Sobreposição espectral entre cantos de anúncio de *Crossodactylus caramaschii* e duas espécies de *Hylodes* em diferentes condições temporais de ocorrência: *Hylodes heyeri* (a); e *Hylodes cardosoi* (b).

Fig. 4 Distribuição de 52 machos *Crossodactylus caramaschii* obtidos a partir da PCA realizada com 10 propriedades acústicas; as localidades são sinalizadas por pontos coloridos: vermelho = Eldorado (localidade-tipo); verde = Iporanga; azul = Ribeirão Grande e roxo = São Miguel Arcanjo. As elipses foram representadas com intervalo de confiança de 95%.

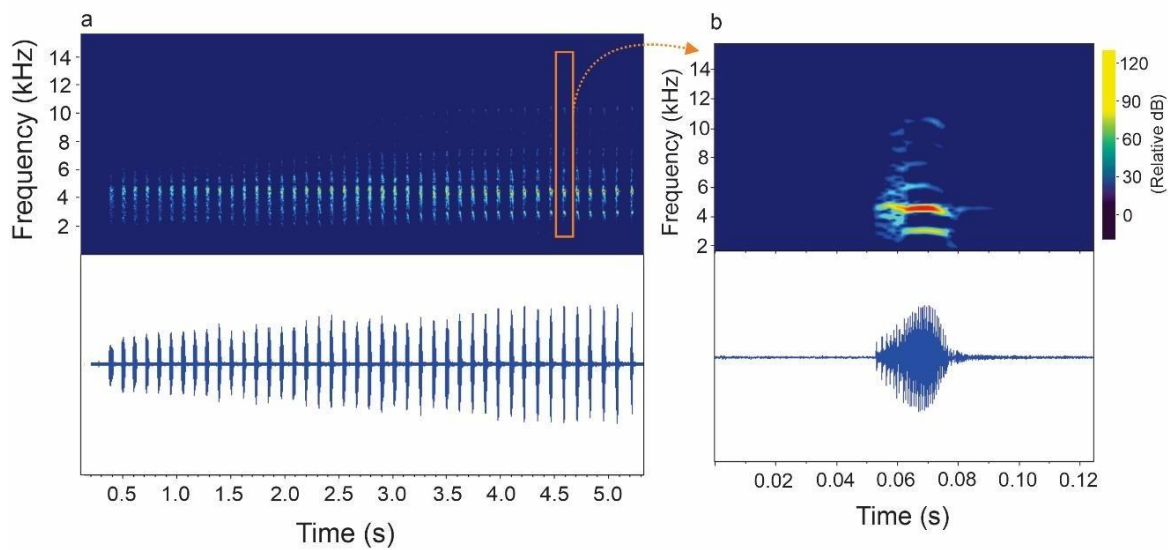


Fig. 1

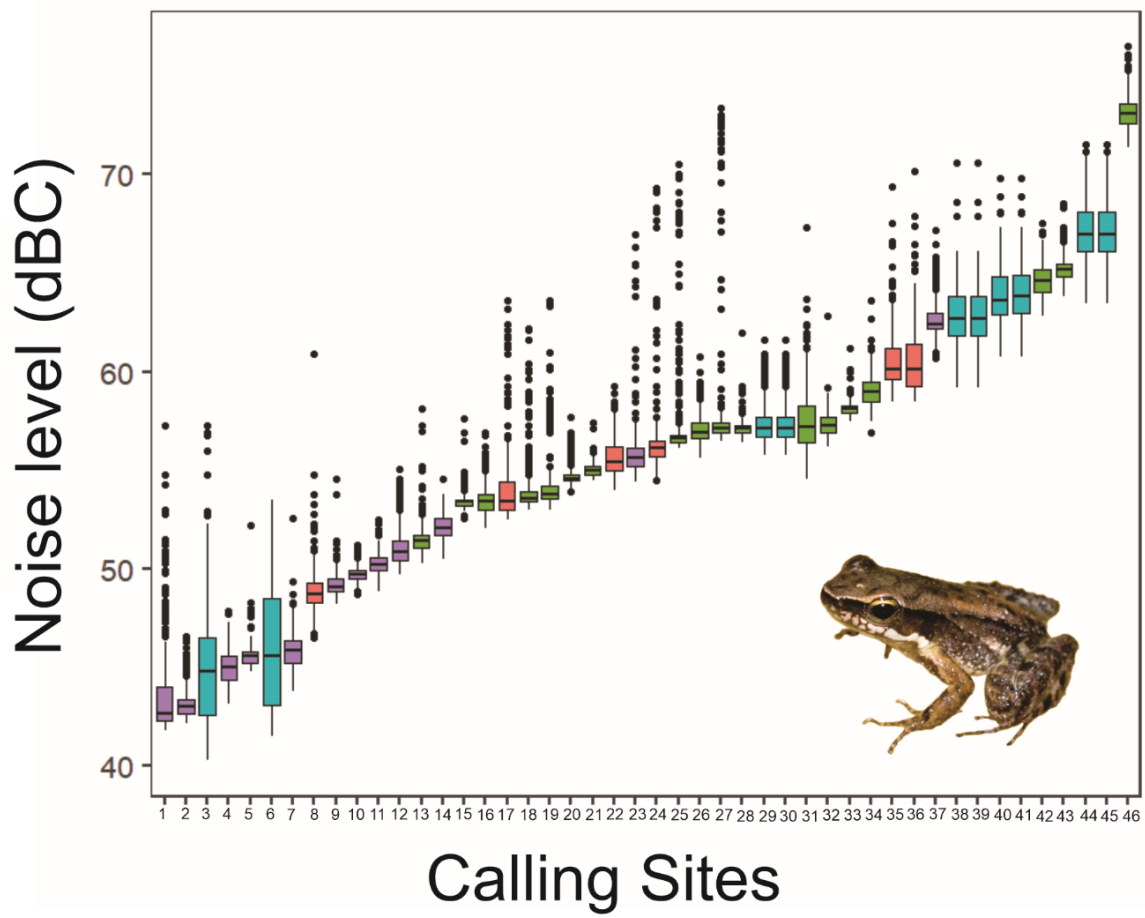
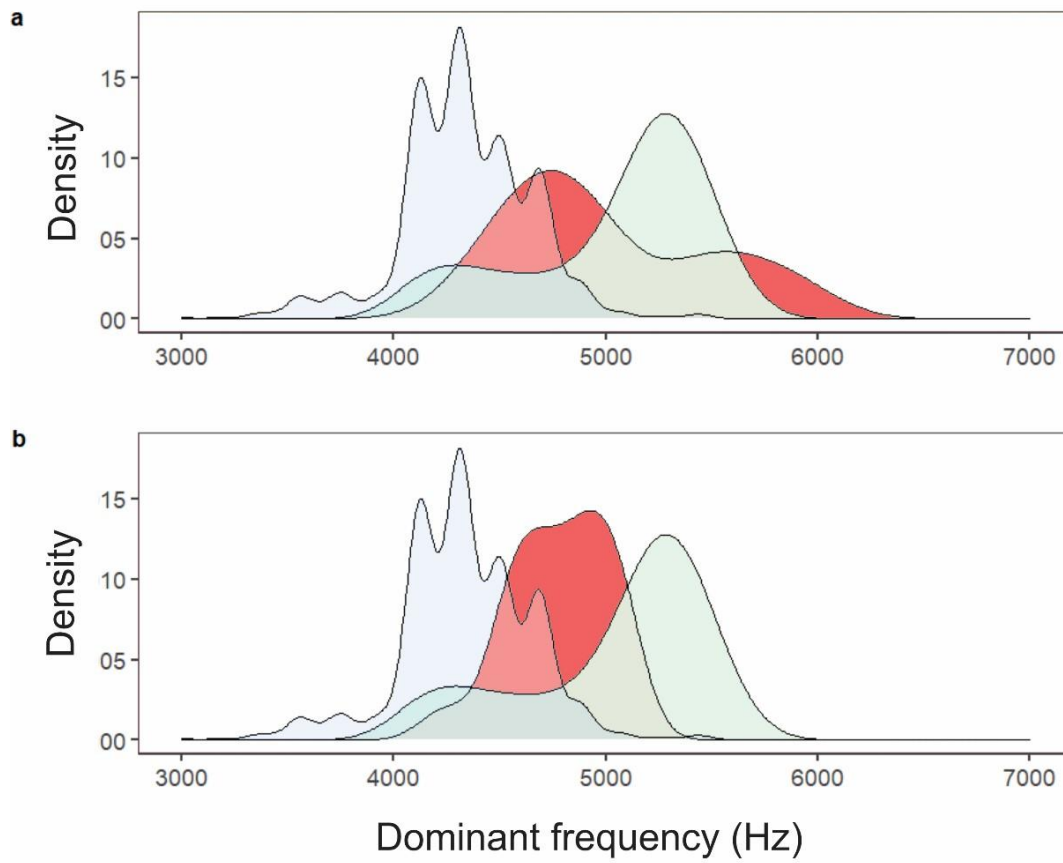
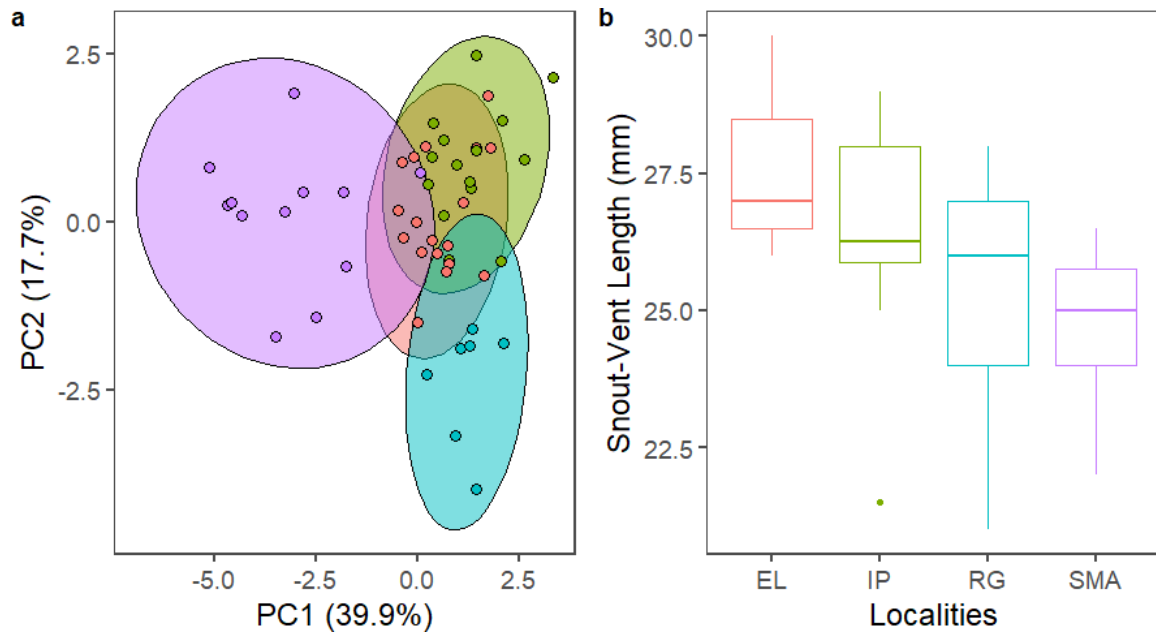


Fig. 2

**Fig. 3**

**Fig. 4**

Material eletrônico suplementar**Recurso Online 1** Dados gerais sobre as localidades onde o estudo foi realizado.

Município	Unidade de conservação	Elevação (m)	Temperatura mínima (C°)	Coordenadas (Lat ; Long)
São Miguel Arcanjo	Parque Estadual Carlos Botelho	780	16.6	-24.062317° ; -47.992336°
Ribeirão Grande	Parque Estadual Intervalles	808	16.5	-24.274503° ; -48.417346°
Eldorado	Parque Estadual da Caverna do Diabo	483	20.4	-24.636329° ; -48.403442°
Iporanga	Parque Estadual Turístico do alto Ribeira	270	18.7	-24.533361° ; -48.699261°

Recurso Online 2 Resultado da análise de componentes principais baseado em 10 propriedades acústicas de 52 machos da espécie *Crossodactylus caramaschii* de 4 localidades do Sudeste do Brasil.

Dimensions	Eigenvalue	Percentage of variance (%)	Cumulative variance (%)
PC1	3.989393	39.89393	39.89393
PC2	1.771237	17.71237	57.60631
PC3	1.381446	13.81446	71.42076
PC4	1.079576	10.79576	82.21653
PC5	0.746329	7.46329	89.67982
PC6	0.526073	5.260735	94.94055
PC7	0.261921	2.619214	97.55976
PC8	0.128436	1.284361	98.84413
PC9	0.070356	0.703563	99.54769
PC10	0.045231	0.452311	100

Recurso Online 3 Contribuição parcial de cada propriedade acústica para as duas dimensões principais que resultaram da análise de componentes principais baseada em vocalizações de 52 machos de *Crossodactylus caramaschii*.

Propriedades acústicas	PC1	PC2
Intervalo entre notas	0.203671939	0.393344966
Número de notas	0.769695907	0.001416055
Duração da nota	0.080979746	0.475071659
Tempo de chegada até amplitude máxima	0.339155725	0.398472912
Taxa do canto	0.181361563	0.038935338
Duração do canto	0.511559964	0.000885602
Frequência dominante	0.660208225	0.041766669
Frequência máxima	0.082477956	0.344503967
Frequência mínima	0.693363987	2.23454E-05
Amplitude espectral	0.466918302	0.076817864

Recurso Online 4 Interações significativas observadas a partir dos modelos glmm para cada propriedade do canto de anúncio do sapo de torrente *Crossodactylus caramaschii*. Relação entre temperatura do ar e duração do canto de anúncio (a); relação entre MAEAN (mediana do envelope de amplitude do ruído abiótico) e duração do canto de anúncio (b), frequência mínima (c) e amplitude de frequência (d); relação entre duração de ruído biótico heteroespecífico e amplitude de frequência (e).

