

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Dissertação

**Análise Comparada do Canto de Anúncio de *Aplastodiscus eugenioi*
(Anura: Hylidae) de Diferentes Populações ao Longo da Distribuição
Geográfica da Espécie**

Rogério Benevides de Miranda

Seropédica, 2013



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO

INSTITUTO DE BIOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

**Análise Comparada do Canto de Anúncio de *Aplastodiscus eugenioi*
(Anura: Hylidae) de Diferentes Populações ao Longo da Distribuição
Geográfica da Espécie**

Rogério Benevides de Miranda

Prof.^o Dr. Hélio Ricardo da Silva

Orientador

Prof.^a Dr.^a Patrícia Alves Abrunhosa

Co-Orientadora

Dissertação submetida como requisito parcial para
obtenção do grau de **Mestre em Biologia Animal**,
no Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal.

Seropédica, RJ

Maio, 2013

Ficha Catalográfica

597.8

Miranda, Rogério Benevides de, 1981-

M672a

T

Análise comparada do canto de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi* (Anura: Hylidae) de diferentes populações ao longo da distribuição geográfica da espécie / Rogério Benevides de Miranda. - 2013.

66 f.: il.

Orientador: Hélio Ricardo da Silva.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal.

Inclui bibliografia.

1. Rã - Vocalização - Análise - Teses. 2. Rã - Populações - Teses. 3. Animais - Sons - Teses. 4. Animais das ilhas - Teses. 5. Hylidae - Teses. I. Silva, Hélio Ricardo da, 1961-. II. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal. III. Título.

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA ANIMAL

**Análise Comparada do Canto de Anúncio de *Aplastodiscus eugenioi* (Anura: Hylidae)
de Diferentes Populações ao Longo da Distribuição Geográfica da Espécie**

Rogério Benevides de Miranda

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Biologia Animal**, no Curso de Pós-Graduação em Biologia Animal.

Orientadores: Dr. Hélio Ricardo da Silva

Dr.^a Patrícia Alves Abrunhosa

Dissertação aprovada em: / / .

Hélio Ricardo da Silva (Dr.) UFRRJ

Orientador

José P. Pombal Jr. (Dr.) Museu Nacional, UFRJ

Membro Titular

Henrique Wogel (Dr.) UNIGRANRIO

Membro Titular

“Quem foi que fez o samba embolar?
E quem foi que fez o côco sambar?
Quem foi que fez a ema gemer na boa?
E quem foi que fez do côco um cocar?
E quem foi que deixou o ôco no lugar?
E quem foi que fez o SAPO CANTOR de
lagoa?”

Jack Soul Brasileiro, Lenine.

Agradecimentos

Primeiramente agradeço aos meus orientadores. À Prof.^a Patrícia, por ter aceitado me orientar mesmo sem nunca termos tido qualquer tipo de contato prévio, por sua atenção e comprometimento comigo sempre que necessitei. Agradeço especialmente ao Prof. Hélio Ricardo, por ser meu orientador, mentor e exemplo profissional e humano, além de, ainda que inconscientemente, ser meu maior incentivador desde os tempos de Graduação. A quem tenho orgulho de chamar, antes de tudo, de amigo! Vislumbro meu futuro como herpetólogo atuando nas áreas de Biogeografia e Bioacústica graças a vocês.

Obrigado aos amigos e companheiros de coleta e laboratório: Edicarlos Pralon e Gustavo Colaço pela cumplicidade e dedicação, seja no campo ou em outros temas relacionados ou não com esta dissertação. A André Silva e William Douglas de Carvalho (além da bela foto de capa!) também pela imprescindível participação no trabalho de campo. Agradeço também ao suporte estatístico do Prof. Guilherme Filho e da galera do Laboratório de Ecologia de Peixes: Marcos Rodrigues da Costa, Alex Iacone, Taynara Franco, Carolina Corrêa e Daniel Gouvêa (pelo acolhimento) e Tailan Moretti, que me acudiram nos momentos de desespero numérico. Agradeço à Rachel Montesinos e aos professores Célio Haddad e José Pombal Jr. por me cederem seus dados e gravações para que eu pudesse dar continuidade ao trabalho. Confesso que contei com orientações, dicas e auxílios estatísticos de um ser não-humano, um hobbit, mais precisamente! Muito obrigado ao Hobbit, Marcos Bilate.

Um agradecimento especial ao Prof. Alexandre Bamberg por assumir minha orientação num turbulento momento inicial do Mestrado.

Não poderia também esquecer os irmãos que escolhi pra minha vida, os quais não tiveram participação direta, mas colaboraram de alguma forma pra que essa etapa fosse completada: Fernando Pinto, Gustavo Klotz e Rafael Albieri. Obrigado também Vinícius Miranda, Thiago

Rodrigues, Michel Bastos, Bianca Terra e Geisa Alves por sempre se mostrarem dispostos a me ajudar. E um agradecimento especial àquele que, mesmo distante, esteve sempre presente: Pictor Benmaman. Obrigado também aos irmãos que não estiveram envolvidos, mas sempre se mostraram interessados e preocupados com o andamento do trabalho, além de serem meus amigos mais antigos: Rafael Ferrer e Joseilson Nascimento.

Agradecimento mais que especial à minha família, principalmente meus pais (Regina e José Miranda) pelo apoio incondicional em minhas decisões (mesmo que estas me levem por dois longos anos pro outro lado do Mundo), pelo suporte psicológico e financeiro, e, sobretudo, por existirem em minha vida! Sei que ainda tenho um longo caminho a trilhar, mas se até aqui algo foi conquistado, tenho certeza que isso só foi possível por vocês terem me dado a orientação e os exemplos necessários.

Ao INEA pelas licenças de coleta concedidas e a CAPES, pela bolsa de estudos.

Agradeço a Deus (caso ele exista e se importe comigo) ou ao acaso, enfim, agradeço a tudo e a todos que contribuíram de alguma forma para que essa importante etapa da minha vida fosse concluída com êxito e que, por ventura, eu tenha deixado de mencionar.

VALEU, PESSOAL!

Resumo Geral

Miranda, Rogério Benevides de. **Análise Comparada do Canto de Anúncio de *Aplastodiscus eugenioi* (Anura: Hylidae) de Diferentes Populações ao Longo da Distribuição Geográfica da Espécie.**

Seropédica: UFRRJ, 2013. 68p. (Dissertação, Mestrado em Biologia Animal).

O presente estudo busca investigar as similaridades dos cantos de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi* e *A. albofrenatus*, bem como verificar possíveis variações nos parâmetros acústicos do canto de anúncio de *A. eugenioi*, em consequência do isolamento geográfico em ilhas continentais da Costa Verde do Estado do Rio de Janeiro. Foi observado que os cantos de *A. eugenioi* e *A. albofrenatus* são extremamente similares com relação às variáveis temporais e espectrais, entretanto, não foi tomada qualquer ação taxonômica. Além disso, a seleção sexual exercida pelas fêmeas parece atuar em caracteres pouco variáveis do canto ou simplesmente o tempo de isolamento ainda não é o suficiente para que variações no canto sejam detectáveis pelas análises acústicas. Análises complementares mais detalhadas com outros tipos de ferramentas são necessárias para uma decisão final mais segura quanto ao *status* taxonômico e à cerca da evolução de espécies em ilhas continentais.

Palavras-chave: *Aplastodiscus albofrenatus*; *Aplastodiscus eugenioi*; canto de anúncio; evolução; ilhas; *status* taxonômico; variação acústica.

General Abstract

Miranda, Rogério Benevides de. **Comparative Analysis of the Advertisement Call of *Aplastodiscus eugenioi* (Anura: Hylidae) from Different Populations along the Geographic Distribution of the Species.**

Seropédica: UFRRJ, 2013. 68p. (Dissertation, Master of Animal Biology).

This study investigates similarities in the advertisement call of *Aplastodiscus eugenioi* and *A. albofrenatus*, as well as examines possible variations in acoustic parameters related to geographic isolation in continental islands. It was observed that the calls of *A. eugenioi* and *A. albofrenatus* are extremely similar, however, there was no taxonomic action taken. Furthermore, the female mating choice seems to act upon acoustic characters which vary little, or simply isolation time is not yet sufficient, thus it is difficult to detect any variation in acoustic analyses. Deeper complementary analyses using another type of investigation tool are necessary in order to achieve a more secure ultimate decision about the taxonomic *status* and the evolution of these species in continental islands.

Keywords: advertisement call; *Aplastodiscus albofrenatus*; *Aplastodiscus eugenioi*; evolution; islands; sexual selection; taxonomic status.

Sumário

	Página
1. Introdução Geral.....	1
2. Referências Bibliográficas	2
Capítulo I. Comparação acústica entre duas espécies morfológicamente semelhantes: <i>Aplastodiscus eugenioi</i> and <i>A. albofrenatus</i> (Anura: Hylidae).....	4
Resumo.....	5
Abstract	6
1. Introdução	7
2. Materiais e Métodos	9
2.1. Área de Estudo	9
2.2. A Espécie Estudada	10
2.3. Gravação e Análise dos Cantos	11
2.4. Análises Estatísticas	12
3. Resultados	13
4. Discussão.....	20
5. Referências Bibliográficas	23
Capítulo II. Análise do canto de anúncio de <i>Aplastodiscus eugenioi</i> (Anura: Hylidae) em populações de ilhas continentais	28
Resumo.....	29
Abstract	30
1. Introdução	31
2. Materiais e Métodos	34
2.1. Área de Estudo	34
2.2. A Espécie Estudada	36
2.3. Gravação e Análise dos Cantos	37

2.4. Análises Estatísticas	38
3. Resultados	38
4. Discussão.....	44
5. Referências Bibliográficas	47
3. Conclusões e Considerações Finais.....	55

1. Introdução Geral

Estudos utilizando a bioacústica como ferramenta eficaz no auxílio da identificação de espécies de anuros (Heyer e Reid, 2003; Almeida e Angulo, 2006; Angulo e Reichle, 2008) ou como caráter diagnóstico em descrições de novas espécies (Haddad e Sazima, 2004) são cada vez mais frequentes e, atualmente, esta é uma linha de investigação em franco desenvolvimento. O canto de anúncio de anuros também pode ser utilizado para investigar potenciais processos evolutivos de faunas insulares (Ryan *et al.*, 1996), uma vez que este pode variar geograficamente entre populações da mesma espécie (Littlejohn, 1964, 1965; Sinsch e Schneider, 1996; Pröhl *et al.*, 2006).

Para o desenvolvimento deste trabalho, *Aplastodiscus eugenioi* (Carvalho-e-Silva e Carvalho-e-Silva 2005) foi escolhido como modelo por se tratar de uma espécie de ampla e conhecida distribuição (Salles, Pontes e Silva-Soares, 2012), por apresentar abundância satisfatória (tanto na costa quanto nas ilhas amostradas), canto simples (Carvalho-e-Silva e Carvalho-e-Silva, 2005; Orrico, Carvalho-e-Silva e Carvalho-e-Silva, 2006) e comportamento documentado (Hartmann, Hartmann e Haddad, 2004). O gênero *Aplastodiscus* Lutz (1950) está distribuído desde a região central e o sudeste do Brasil até áreas adjacentes da Argentina (Frost, 2011). Atualmente este gênero divide-se em três grupos: *A. albosignatus* (Lutz e Lutz, 1938), *A. perviridis* (Lutz, 1950) e *A. albofrenatus* (Lutz, 1924; Faivovich *et al.*, 2005). *Aplastodiscus eugenioi* pertence ao grupo de *A. albofrenatus*. Apesar de *A. eugenioi* e *A. albofrenatus* serem espécies distintas, apresentam grande similaridade em suas morfologias externas e cantos extremamente semelhantes. Mesmo se tratando de uma espécie bem conhecida, não existem estudos sobre variações fenotípicas no canto de anúncio de *A. eugenioi* devido ao isolamento geográfico em ilhas continentais.

O presente estudo busca em seu primeiro capítulo investigar as similaridades dos cantos de *Aplastodiscus eugenioi* e *A. albofrenatus*, visando determinar a posição taxonômica

de ambas as espécies com base em comparações dos parâmetros acústicos dos cantos de anúncio. No segundo capítulo, é testada a hipótese de que haja variações nos parâmetros acústicos do canto de anúncio de *A. eugenioi* em consequência do isolamento geográfico em ilhas continentais da Costa Verde do Estado do Rio de Janeiro.

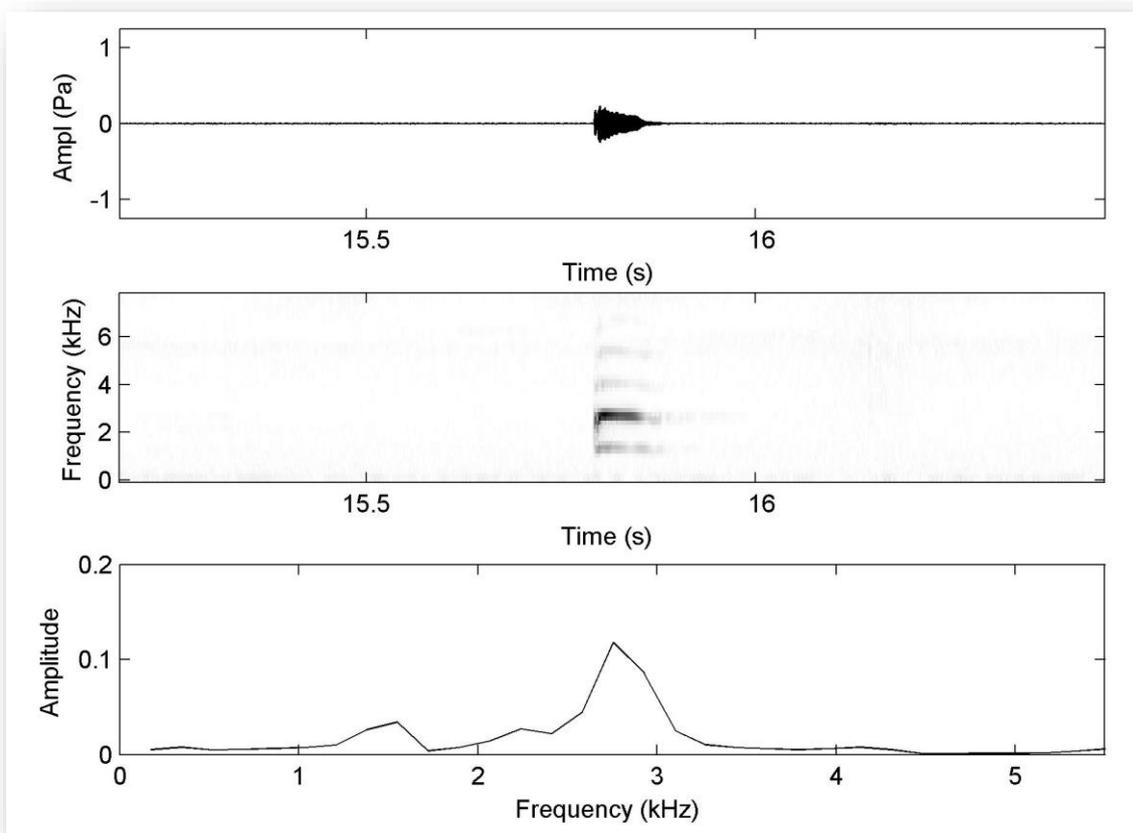
2. Referências Bibliográficas

- Almeida A.P., Angulo, A. (2006): A new species of *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the state of Espírito Santo, Brazil, with remarks on the systematics of associated populations. *Zootaxa*, **1334**: 1–25.
- Angulo, A.; Reichle, S. (2008): Acoustic signals, species diagnosis, and species concepts: the case of a new cryptic species of *Leptodactylus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from the Chapare region, Bolivia. *J. Linn. Soc. London, Zool.*, **152**: 59-77.
- Carvalho-e-Silva, A.M.P.T., Carvalho-e-Silva S.P. (2005): New Species of the *Hyla albofrenata* Group, from the States of Rio de Janeiro and São Paulo, Brazil (Anura, Hylidae) *J. Herpetol.*, **39** (1): 73-81.
- Faivovich, J., C.F.B. Haddad, Garcia, P.C.A., Frost, D.R., Campbell, J.A., Wheeler, W.C. (2005). Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: Phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* **294**: 1-240.
- Frost, D.R. (2013): *Amphibian Species of the World*. Version 5.5. (23 de Janeiro de 2013). Electronic Database accessible at: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/> American Museum of Natural History, New York, USA.
- Hartmann, M.T.; Hartmann, P.A., Haddad, C.F.B. (2004): Visual signalling and reproductive biology in a nocturnal treefrog genus *Hyla* (Anura: Hylidae). *Amphibia-Reptilia*, **25**: 395-406.
- Haddad, C.F.B., Sazima, I. (2004): A new species of *Physalaemus* (Amphibia; Leptodactylidae) from the Atlantic forest in southeastern Brazil. *Zootaxa*, **479**: 1-12.

- Heyer, R.W., Reid, Y.R. (2003): Does advertisement call variation coincide with genetic variation in the genetically diverse frog taxon currently known as *Leptodactylus fuscus* (Amphibia: Leptodactylidae)? An. Acad. Bras. Cienc., **75**: 39-54.
- Littlejohn, M. J. (1964): Geographic isolation and mating call differentiation in *Crinia signifera*. Evolution, **18**(2): 262-266.
- Littlejohn, M. J. (1965): Premating isolation in the *Hyla ewingi* complex (Anura: Hylidae). Evolution, **19**: 234-243.
- Orrico, V.G.D., Carvalho-e-Silva, A.M., Carvalho-e-Silva, S.P. (2006): Redescription of the advertisement call of *Aplastodiscus arildae* (Cruz & Peixoto) and description of the call of *Aplastodiscus weygoldti* (Cruz & Peixoto) with general notes about the genus in Southeastern Brazil (Anura, Hylidae). Rev. Bras. Zool., **23**: 994-1001.
- Pröhl, H., Koshy, R. A., Mueller, U., Rand, A. S., Ryan, M. J. (2006): Geographic variation of genetic and behavioral traits in northern and southern túngara frogs. Evolution, **60**(8): 1669-1679.
- Ryan, M. J., Rand, A. S., Weigt, L. A. (1996): Allozyme and advertisement call variation in the túngara frog, *Physalaemus pustulosus*. Evolution, **50**(6): 2435-2453.
- Salles, R.O.L., Pontes, R.C., Silva-Soares, T. (2012): New records and geographic distribution of *Aplastodiscus eugenioi* (Anura: Hylidae) in southeastern Brazil. Herpetology Notes, **5**: 431-433.
- Sinsch, U., Schneider, H. (1996): Bioacoustic assessment of the taxonomic status of pool frog populations (*Rana lessonae*) with reference to a topotypical population. J. Zoo. Syst. Evol. Research, **34**(2): 63-73.

Capítulo I

Comparação acústica entre duas espécies morfologicamente semelhantes: *Aplastodiscus eugenioi* e *A. albofrenatus* (Anura: Hylidae)



Seropédica

2013

Resumo

Aplastodiscus eugenioi é um hilídeo, originalmente descrito com base em amostras de oito localidades ao longo de uma faixa de relevo acidentado de Mata Atlântica costeira. Juntamente com a descrição original, os autores fornecem um breve comentário sobre o canto da espécie e uma comparação superficial com o canto de *A. albofrenatus*, que é considerado uma espécie morfologicamente semelhante. Análises e dados disponíveis sobre o canto de *A. eugenioi* são provenientes de poucos indivíduos, oriundos de uma população localizada a 100 km ao sul da localidade tipo. Neste capítulo, apresento a descrição do canto de anúncio de *A. eugenioi* proveniente de três localidades (Itaguaí, cerca de 10 km a leste da localidade tipo; Guapimirim e Picinguaba; esta última, representando uma reanálise dos cantos já publicados), além da redescrição do canto de anúncio de *Aplastodiscus albofrenatus*, com o intuito de avaliar a similaridade acústica e rever o *status* taxonômico das duas espécies. Analisei 445 cantos de 28 machos e observei que os cantos de *A. eugenioi* e *A. albofrenatus* são extremamente similares. Embora os parâmetros espectrais não tenham separado as espécies, os parâmetros temporais apresentaram alguma diferença. Tendo em vista que parâmetros temporais, em geral, são dinâmicos e tendem a sofrer influência de variáveis climáticas e sociais, me abstenho de qualquer ação taxonômica baseada somente neste conjunto de dados. Análises mais detalhadas são necessárias para que uma decisão final possa ser tomada de maneira mais segura.

Palavras-chave: *Aplastodiscus eugenioi*, *Aplastodiscus albofrenatus*; canto de anúncio; similaridade acústica; status taxonômico.

Abstract

Aplastodiscus eugenioi is a hylid frog, originally described based on samples from eight localities along a stretch of coastal hilly Atlantic Forest. Together with the original description, the authors provided brief accounts of the species call and anecdotal comparisons with *A. albofrenatus* (Lutz, 1924), which is considered a similar species. Available data and analyses of the call of *A. eugenioi* are based on recordings of a few specimens, from a population 100 km south of the type locality. In this chapter, I present a description of the advertisement call of *A. eugenioi* from three localities (Itaguaí, about 10 km east of the type locality; Guapimirim and Picinguaba; the last representing a reanalysis of already published calls), and a redescription of the advertisement call of *Aplastodiscus albofrenatus*, in order to assess the acoustic similarity and re-evaluate the taxonomic *status* of both species. I analysed 445 calls, from 28 individuals and observed that advertisement calls of *A. eugenioi* and *A. albofrenatus* are highly similar. Although spectral parameters did not separate *A. eugenioi* and *A. albofrenatus*, temporal parameters showed some distinctiveness. Having in mind that temporal parameters are, in general, dynamics and tend to suffer influence of climatic and social variables, I refrain from any taxonomic action based solely on this set of data. Further investigation is necessary so that such a decision can confidently be made.

Keywords: Acoustic similarities; advertisement call; amphibians; taxonomic status.

1. Introdução

Aplastodiscus eugenioi (Carvalho-e-Silva e Carvalho-e-Silva, 2005) é um hilídeo, originalmente descrito com base em amostras de oito localidades ao longo de uma faixa de relevo acidentado de Mata Atlântica costeira. Quando se deu a descrição, a espécie tinha ocorrência conhecida a partir do sul do estado do Rio de Janeiro, próximo à Baía da Guanabara até o norte do estado de São Paulo Carvalho-e-Silva e Carvalho-e-Silva (2005). Recentemente, sua distribuição geográfica foi estendida com a inclusão de duas novas localidades ao norte da distribuição até então conhecida para o estado do Rio de Janeiro (Salles, Pontes e Silva-Soares, 2012; Figura 1).

Um ano antes da descrição original, Hartmann, Hartmann e Haddad (2004) apresentaram dados sobre reprodução de uma espécie de hilídeo que eles atribuíram a uma espécie de *Hyla*, considerada muito semelhantes à *Hyla ehrhardti* Müller, 1924, para uma população de Picinguaba, no norte do estado de São Paulo. Em sua descrição original, Carvalho-e-Silva e Carvalho-e-Silva (2005) também descrevem o girino e apresentam um breve comentário a respeito do comportamento de canto da espécie, que não analisam de modo convencional, mas apresentam uma descrição: “Eles [machos] começam a vocalizar assim que escurece e o canto é composto por uma única nota, repetida cerca de 40 vezes por minuto” (p. 79). Os autores também comparam o canto da nova espécie com o canto de *Aplastodiscus albofrenatus* (Lutz, 1924): “Cantos também são diferentes, apresentando maior sonoridade e taxa de repetição mais lenta em *H. eugenioi* do que em *H. albofrenata*” (p. 80) – Note que, na época da descrição, os táxons ainda eram considerados como pertencentes ao gênero *Hyla*. Hartmann, Hartmann e Haddad (2004) apresentam um conjunto de comportamentos, algo como um ritual, o qual já foi observado para várias espécies hoje no gênero *Aplastodiscus*. Aparentemente, a construção de ninhos subterrâneos na lama, próximo

a riachos, por parte dos machos, é um comportamento reprodutivo sinapomórfico destas pererecas verdes (Carvalho, Galdino e Nascimento, 2006). No mesmo estudo, ainda descrevem e analisam o canto da espécie. Em um trabalho mais recente, Orrico, Carvalho-e-Silva e Carvalho-e-Silva (2006) apresentaram uma comparação de diversos parâmetros acústicos de quatro espécies de *Aplastodiscus*, para as quais o canto já era conhecido. Os mesmos consideraram os cantos descritos por Hartmann, Hartmann e Haddad (2004) como sendo de *A. eugenioi*, seguindo Conte, Lingnau e Kwet (2005).

Segundo a descrição original, a localidade tipo de *Aplastodiscus eugenioi* foi indicada como sendo Serra do Piloto, Mangaratiba, no Estado do Rio de Janeiro, enquanto a localidade onde o canto da espécie foi descrito por Hartmann, Hartmann e Haddad (2004) está cerca de 100 km ao sul, em linha reta. Além disso, a informação é derivada da gravação de um número desconhecido de espécimes e também não há qualquer informação a respeito do tamanho dos indivíduos ou sobre qualquer variável ambiental registrada durante as gravações (Hartmann, Hartmann e Haddad, 2004).

Aplastodiscus eugenioi e *A. albofrenatus* são espécies distintas, no entanto, morfologicamente muito semelhantes (Carvalho-e-Silva e Carvalho-e-Silva, 2005). Além disso, a pouca informação acústica disponível (Bokermann, 1967; Hartmann, Hartmann e Haddad, 2004) que permita a comparação de seus cantos, suscitou a suspeita de que uma possa ser sinônima da outra. Neste trabalho, apresento a descrição do canto de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi*, proveniente de três localidades (uma cerca de 10 km a leste da localidade tipo, outra, cerca de 100 km a leste da localidade tipo; e a última, representando a reanálise do canto já publicado de Picinguaba, a 100 km a sul da localidade tipo; Hartmann, Hartmann e Haddad, 2004), também é redescrito o canto de anúncio de *Aplastodiscus albofrenatus* (Bokermann, 1967) da Floresta da Tijuca, localidade tipo da espécie, com o

objetivo de investigar a discriminação acústica das populações e avaliar a posição taxonômica das duas espécies. Adicionalmente, é feita uma análise de similaridade acústica desses cantos com aqueles presentes na literatura para as espécies do gênero.

2. Materiais e Métodos

2.1. Área de Estudo

Espécimes e dados acústicos de *Aplastodiscus eugenioi* são provenientes de três populações distintas: Represa do Itingussú (22°54'3.44"S; 43°53'34.59"W, em torno de 160 m acima do nível do mar), município de Itaguaí, cerca de 10 km a leste da localidade tipo; Sítio Três Irmãos (22°29'26.0" S 42°56'92.2" W, em torno de 100 m acima do nível do mar), município de Guapimirim, a leste da localidade tipo e separado por 100 km de floresta contínua, ambas as localidades dentro do Estado do Rio de Janeiro; e Núcleo Picinguaba (44°50'W; 23023'S, 10-150 m acima do nível do mar), Parque Estadual da Serra do Mar, município de Ubatuba, no Estado de São Paulo, distante cerca de 100 km ao sul da localidade tipo (Figura 1). As gravações da última localidade citada foram fornecidas pelo Dr. Célio F. B. Haddad, da Universidade Estadual Paulista (UNESP – Rio Claro); essas são as mesma gravações analisadas por Hartmann, Hartmann e Haddad (2004). Os machos de *Aplastodiscus albofrenatus* foram gravados e coletados nas proximidades do Parque Nacional da Tijuca (PNT -- 22°57'51.90"S, 43°14'19.45"W), próximos à localidade tipo da espécie, no Estado do Rio de Janeiro. As gravações do canto de anúncio de *A. eugenioi* e *A. albofrenatus*, em diferentes localidades da Mata Atlântica, foram feitas entre 2005 e 2012.

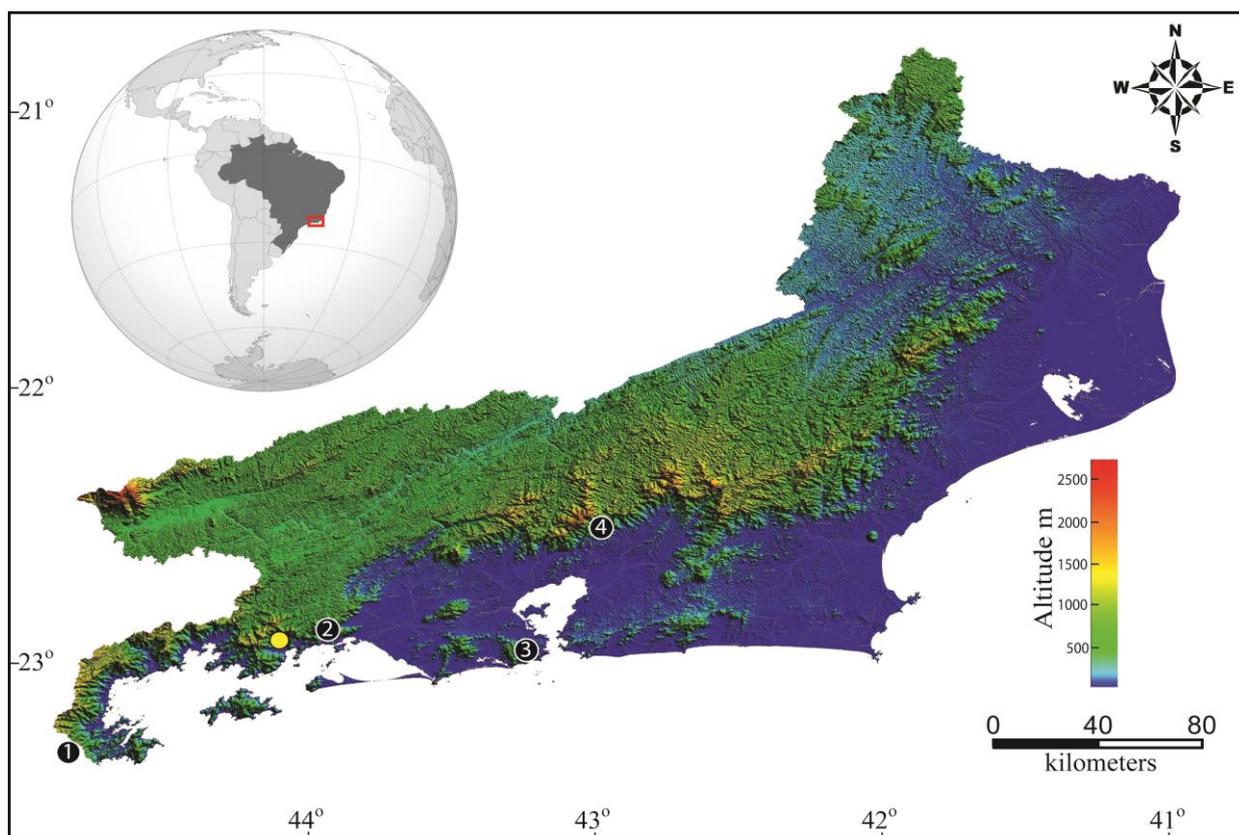


Figura 1: Mapa do Estado do Rio de Janeiro mostrando as localidades onde foram feitas as gravações de *Aplastodiscus eugenioi*: (1) Picinguaba (Estado de São Paulo), (2) Itaguaí, (4) Guapimirim; e *A. albofrenatus*: (3) Floresta da Tijuca. Em amarelo Mangaratiba, localidade tipo.

2.2. As Espécies Estudadas

O gênero *Aplastodiscus* Lutz (1950) está distribuído desde a região central e sudeste do Brasil até áreas adjacentes da Argentina (Frost, 2013). Atualmente este gênero divide-se em três grupos: *A. albosignatus*, *A. perviridis* e *A. albofrenatus* (Faivovich *et al.*, 2005). *Aplastodiscus eugenioi* pertence ao grupo de *A. albofrenatus*. Trata-se de uma espécie endêmica da Mata Atlântica, associada a riachos de florestas (Carvalho-e-Silva e Carvalho-e-Silva, 2005). Apresenta registros nos municípios de Ubatuba e Caraguatatuba, Estado de São Paulo, e nos municípios de Mangaratiba (localidade tipo), Angra dos Reis, Duque de Caxias, Engenheiro Paulo de Frontin, Magé, Nova Iguaçu e Parati, todos no Estado do Rio de

Janeiro. Recentemente teve sua distribuição ampliada para dois novos municípios: Cachoeiras de Macacu e Guapimirim, ambas no Estado do Rio de Janeiro (Salles, Pontes e Silva-Soares, 2012).

Aplastodiscus albofrenatus pertence ao mesmo grupo de *A. eugenioi*. Seus hábitos e morfologia externa são muito semelhantes aos da espécie anteriormente citada. No entanto, sua distribuição não é ampla como a de *A. eugenioi*, esta é restrita à Floresta da Tijuca, no município do Rio de Janeiro (Lutz, 1924).

2.3. Gravação e Análise dos Cantos

Os cantos de *A. eugenioi*, oriundos do Rio de Janeiro, e de *A. albofrenatus* foram gravados numa sequência de três minutos, sendo usado um gravador digital Marantz PMD 660 com um microfone Sennheiser (e835S). As gravações feitas pelo Dr. José P. Pombal Jr., do Museu Nacional (MNRJ), foram feitas com um gravador digital TASCAM DAP1 DAT e um microfone SENNHEISER ME 66. Gravações de *A. eugenioi* de Picinguaba foram feitas usando um gravador analógico UHER 4000 e um microfone cardioide UHERM518A. Espécimes testemunho de Itaguaí e da Floresta da Tijuca estão depositados na Coleção Herpetológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Os cantos foram digitalizados e redigitalizados com uma frequência de amostragem de 44 kHz e 16 bits de resolução, e analisados nos programas Raven Pro Versão 1.4 e SoundRuler Versão 0.9.4.1.

Foram medidos sete parâmetros acústicos do canto de anúncio: duração do canto (s), taxa de repetição do canto (número de cantos por minuto), duração até o pico (s) (Tárano, 2001; corresponde ao *peak time*: tempo desde o início do canto até o ponto de máxima amplitude), formato do canto (razão entre duração até o pico e duração do canto, este parâmetro fornece a forma do envelope: linear, exponencial ou exponencial inversa; ver Gerhardt, 1998), frequência fundamental (kHz), frequência dominante (kHz) e modulação de

frequência (kHz; diferença entre a frequência dominante final e a frequência dominante inicial). Os quatro primeiros parâmetros são temporais e os três últimos são parâmetros espectrais. Oscilogramas, sonogramas e espectro de potência foram produzidos com uso do Sound Ruler Version 0.9.4.1 (FFT = 256; O = 90%; Hanning).

2.4. Análises Estatísticas

As análises estatísticas dos dados de canto foram feitas usando-se uma combinação de técnicas multi e univariadas. Primeiramente, todos os dados foram padronizados (centrados e reduzidos) para tornarem-se adimensionais. Isto foi feito porque alguns parâmetros apresentavam valores negativos. Para criar uma matriz Normalizada de Distância Euclidiana foi utilizado o Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research (PRIMER) software package (Clarke & Warwick 1994) Versão 6. Essa matriz foi submetida a análises de ordenação multidimensional (MDS). Quanto menores os valores de estresse, melhor, e valores variando entre 0,1 e 0,2 podem ser usados (Clarke, 1993). Para testar diferenças significativas entre as quatro populações, foi usada “One-way” ANOSIM. Também foram utilizadas análises univariadas (ANOVA e Teste de Tukey) no intuito de testar as diferenças entre as populações para cada parâmetro medido. No resumo descritivo dos parâmetros acústicos, média e desvio padrão foram usados em dados paramétricos, enquanto que mediana foi utilizada nos dados não-paramétricos. Também realizei uma análise de agrupamento baseada em parâmetros acústicos para as espécies de *Aplastodiscus* (exceto para *A. musicus* e *A. flumineous*, pois não existem dados sobre cantos de anúncio disponíveis).

Quatro parâmetros acústicos foram usados para análise de agrupamento: duração do canto; taxa de repetição do canto, frequência fundamental e frequência dominante. A árvore fenética produzida é resultante de uma análise UPGMA (usando-se distância Euclidiana). Dados acústicos de espécies do grupo *A. perviridis* (Lutz, 1950) foram obtidos de Garcia, Caramaschi e Kwet (2001); informações do grupo *A. albomarginatus* (Lutz and Lutz, 1938)

foram retirados de Abrunhosa *et al.* (2005); dados de *A. ehrhardti* foram provenientes de Conte, Lingnau and Kwet (2005); e Orrico, Carvalho-e-Silva e Carvalho-e-Silva (2006) forneceram dados sobre *A. arildae* (Cruz e Peixoto, 1987) e *A. weygoldti* (Cruz e Peixoto, 1987).

3. Resultados

A tabela 1 apresenta um resumo descritivo dos parâmetros acústicos dos cantos de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi* e *A. albofrenatus*.

Os cantos de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi* e *A. albofrenatus* consistem em uma única nota tonal repetida com intervalos irregulares entre elas. O canto de anúncio de *A. eugenioi* possui duração da mediana (os dados não atendiam todos os requisitos de normalidade) de 0,08 s (N = 245 cantos), totalizando média de 13 cantos por minuto. A frequência fundamental variou entre 1,12 – 1,55 kHz, em Picinguaba; 1,29 – 1,68 kHz, em Itaguaí; 1,30 - 1,90 kHz, em Guapimirim, a frequência dominante variou entre 2,41 – 2,75 kHz, em Picinguaba; 2,41 – 2,89 kHz, em Itaguaí; 2,41-2,93 kHz, em Guapimirim. Já o canto de anúncio de *A. albofrenatus* apresenta duração da mediana de 0,04 (N = 210 cantos), totalizando média de 42 cantos por minuto. A frequência fundamental variou entre 1,19 – 1,55 kHz e a frequência dominante variou entre 2,24 – 2,75 kHz.

Tanto o canto de anúncio de *A. eugenioi* quanto de *A. albofrenatus* possui forma de envelope exponencial inverso (Figuras 2 e 3). Ambas as espécies apresentam o momento de pico de energia bem no início do canto, caindo lentamente após atingir esse pico (Figuras 2 e 3). Análises do sonograma e do espectro de potência indicam o segundo harmônico como sendo o harmônico dominante (ocorrendo 60% em *A. albofrenatus* e 86% em *A. eugenioi*).

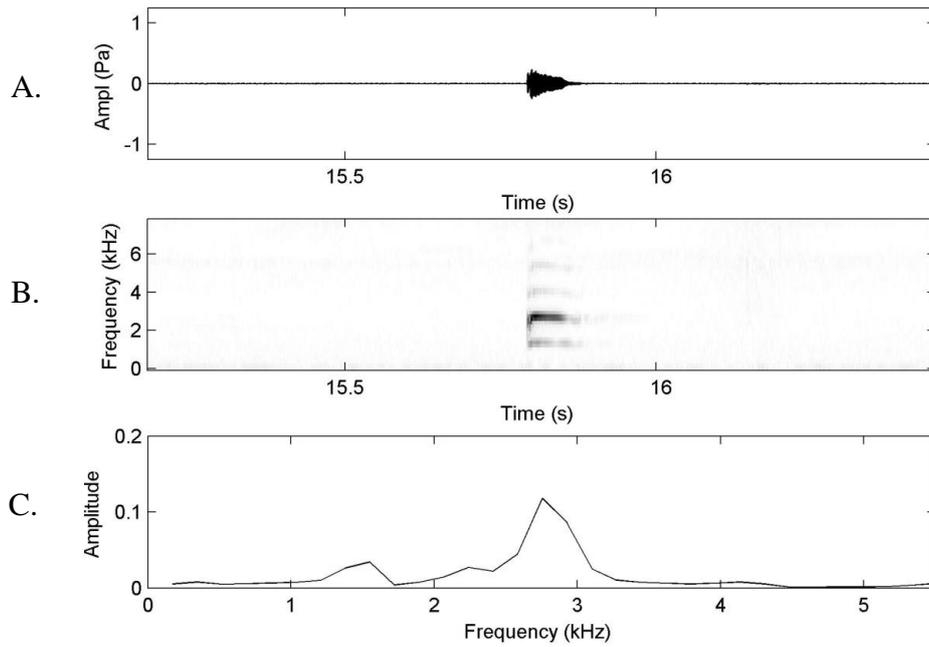


Figura 2: Canto de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi* gravado em Itaguaí, Rio de Janeiro: (A) oscilograma, (B) sonograma e (C) espectro de potência.

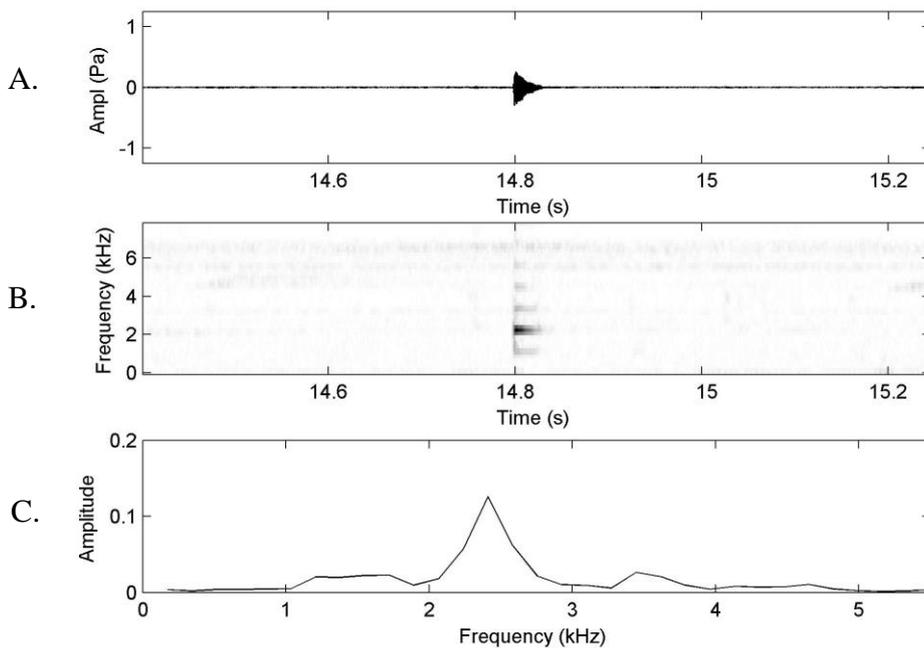


Figura 3: Canto de anúncio de *Aplastodiscus albofrenatus* gravado na Floresta da Tijuca, Rio de Janeiro: (A) oscilograma, (B) sonograma e (C) espectro de potência.

O MDS e a análise de similaridade (ANOSIM) dos parâmetros temporais resultaram numa clara distinção entre três populações: Floresta da Tijuca (*A. albofrenatus*), Guapimirim e Itaguaí (*A. eugenioi*) [$P = 0,001$]. Dados dos dois indivíduos de Picinguaba (menor amostra) aparecem misturados com Guapimirim e Itaguaí (Figura 4). As mesmas análises, quando feitas com parâmetros espectrais, não foram capazes de distinguir qualquer uma das quatro populações (Figura 5). O nível de estresse se mostrou baixo em ambos os casos, sendo 0,07 e 0,02, respectivamente. Todos os parâmetros acústicos também foram testados juntamente, resultando em um arranjo similar ao das variáveis acústicas temporais. Entretanto, o nível de estresse foi mais alto (0,14; Figura 6). O MDS e a ANOSIM aplicados aos cantos dos anuros indicam que as amostras da Floresta da Tijuca e de Guapimirim são as mais distintas baseado em temporal, espectral e para todas as variáveis juntas ($P < 0,05$).

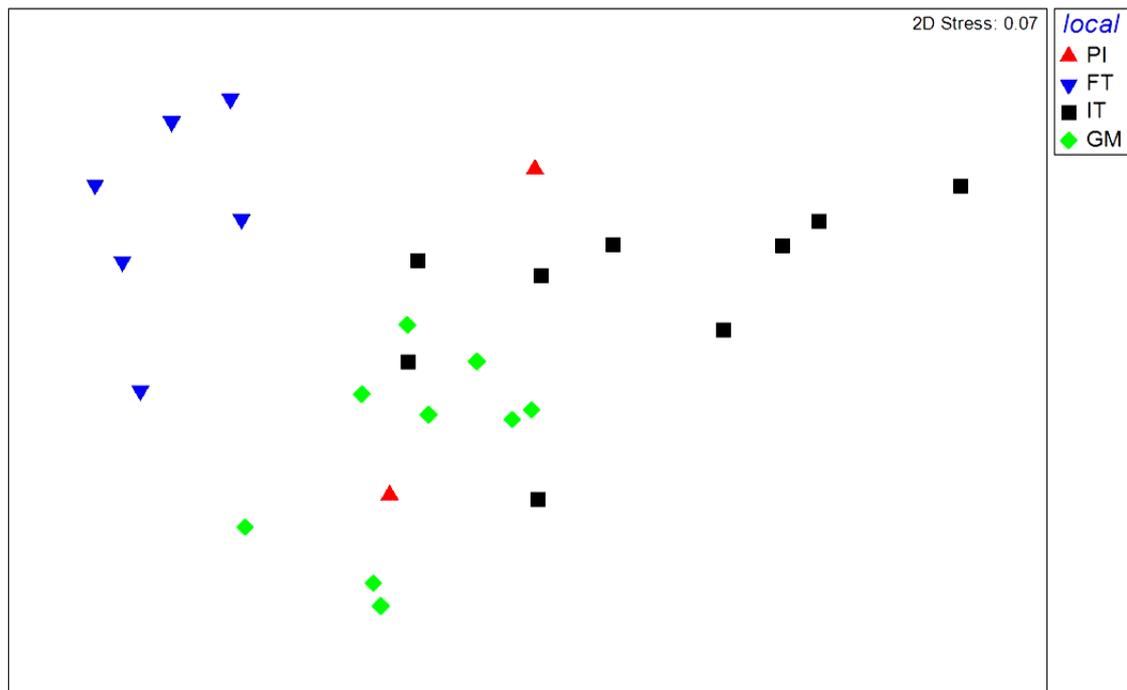


Figura 4: Plotagem do MDS dos parâmetros acústicos temporais de *Aplastodiscus eugenioi* de PI: Picinguaba, IT: Itaguaí, e GM: Guapimirim; e *Aplastodiscus albofrenatus*, da Floresta da Tijuca (FT).

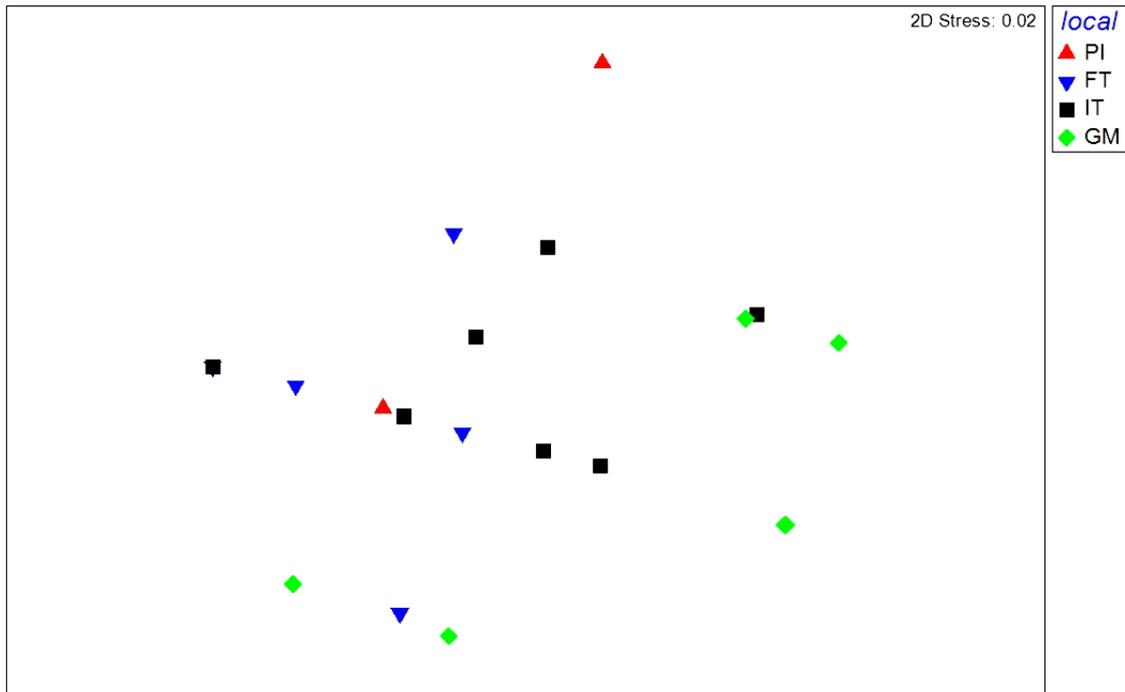


Figura 5: Plotagem do MDS dos parâmetros acústicos espectrais de *Aplastodiscus eugenioi* de PI: Picinguaba, IT: Itaguaí, e GM: Guapimirim; e *Aplastodiscus albofrenatus*, da Floresta da Tijuca (FT).

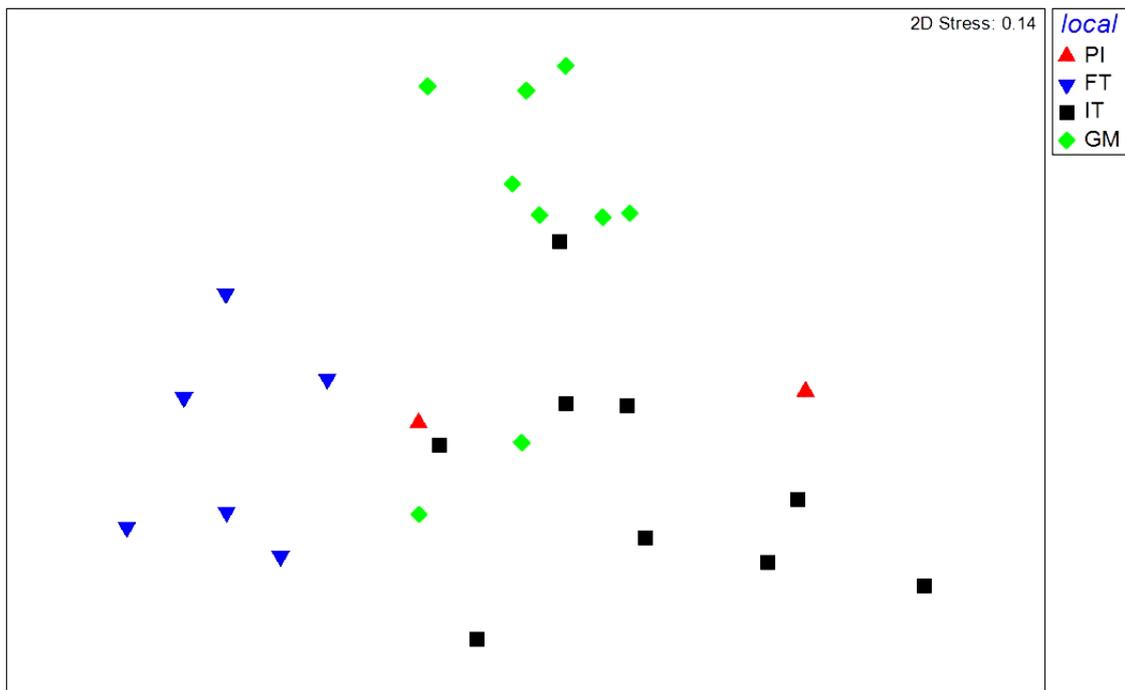


Figura 6: Plotagem do MDS dos parâmetros acústicos espectrais e temporais de *Aplastodiscus eugenioi* de PI: Picinguaba, IT: Itaguaí, e GM: Guapimirim; e *Aplastodiscus albofrenatus*, da Floresta da Tijuca (FT).

A ANOVA das variáveis temporais e dos parâmetros espectrais (Tabela 1) dos cantos mostrou que as quatro populações são significativamente diferentes. Entretanto, os contrastes planejados mostraram que as diferenças nos parâmetros temporais eram encontradas apenas quando a Floresta da Tijuca era comparada com cada uma das outras localidades (Guapimirim, Itaguaí, e Picinguaba). Enquanto que os Testes de Tukey das variáveis espectrais indicaram que diferenças significativas foram observadas entre Guapimirim e cada uma das outras localidades.

Tabela 1. Valores de F da análise ANOVA, média (exceto modulação de frequência, frequência dominante e frequência fundamental, os quais possuem valores referentes à mediana) \pm desvio padrão (DP) e (amplitude) para três populações de *Aplastodiscus eugenioi* e uma população de *A. albofrenatus*. Letras indicam diferenças significativas (teste de Tukey); * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; ns = não-significativo.

	Valores de F	<i>A. eugenioi</i>			<i>A. albofrenatus</i>
		Picinguaba	Itaguaí	Guapimirim	Floresta da Tijuca
Duração do canto (s)	F [3,23] = 17.82**	0.08 \pm 0.02 ^a (0.05–0.12)	0.10 \pm 0.02 ^a (0.06–0.12)	0.08 \pm 0.01 ^a (0.06–0.10)	0.04 \pm 0.01 ^b (0.02–0.07)
Taxa de repetição do canto (cantos/minuto)	F [3,23] = 15.31**	18.00 \pm 1.41 (13–19)	13.08 \pm 6.60 ^b (3–19)	8.48 \pm 3.33 ^b (3–16)	41.6 \pm 14.62 ^a (7–61)
Duração até o pico (s)	F [3,23] = 9.9**	0.008 \pm 0.004 (0.001–0.02)	0.014 \pm 0.01 ^a (0.002–0.03)	0.006 \pm 0.003 ^b (0.001–0.01)	0.004 \pm 0.001 ^b (0.001–0.02)
Formato do Canto	F [3,23] = 5.03**	0.11 \pm 0.08 (0.01–0.43)	0.13 \pm 0.04 ^a (0.02–0.30)	0.07 \pm 0.03 ^b (0.01–0.17)	0.08 \pm 0.02 ^b (0.02–0.34)
Frequência dominante (kHz)	F [3,23] = 6.3**	2.67 (2.41–2.75)	2.75 (2.41–2.89)	2.93 ^a (2.41–2.93)	2.58 ^b (2.24–2.75)
Frequência fundamental (kHz)	F [3,23] = 8.0**	1.36 ^b (1.12–1.55)	1.38 ^b (1.29–1.68)	1.55 ^a (1.30–1.90)	1.38 ^b (1.19–1.55)
Modulação de frequência (kHz)	F [3,19] = 0.37 ^{ns}	0.17 (-0.17–0.34)	0 (-0.34–0.34)	0 (-0.34–0.52)	0 (-0.17–0.52)
Número de cantos analisados		47	98	90	210
Número de indivíduos gravados		2	10	9	7

A árvore fenética gerada após análise dos cantos (Figura 7) apresenta dois grupos distintos e a taxa de repetição foi o parâmetro responsável por esta separação. O primeiro grande agrupamento, contendo o maior número de espécies, é formado por aqueles que apresentam taxa de repetição intermediária (variando entre 42 e 67 cantos/minuto, representado pelas seguintes espécies: *A. albofrenatus*, *A. arildae*, *A. leucopygius*, *A. ibirapitangus*, *A. perviridis*, *A. cochranæ* e *A. abosignatus*), e também pelas espécies com a taxa de repetição mais baixa (entre 11 e 26 cantos/minuto, representado por: *A. eugenioi*, *A. weygoldti*, *A. caviculus* e *A. callipygius*). O segundo agrupamento possui apenas duas espécies, *A. ehrardti* com uma média de 230 cantos/minuto e *A. sibilatus* com uma média de 150 cantos/minuto.

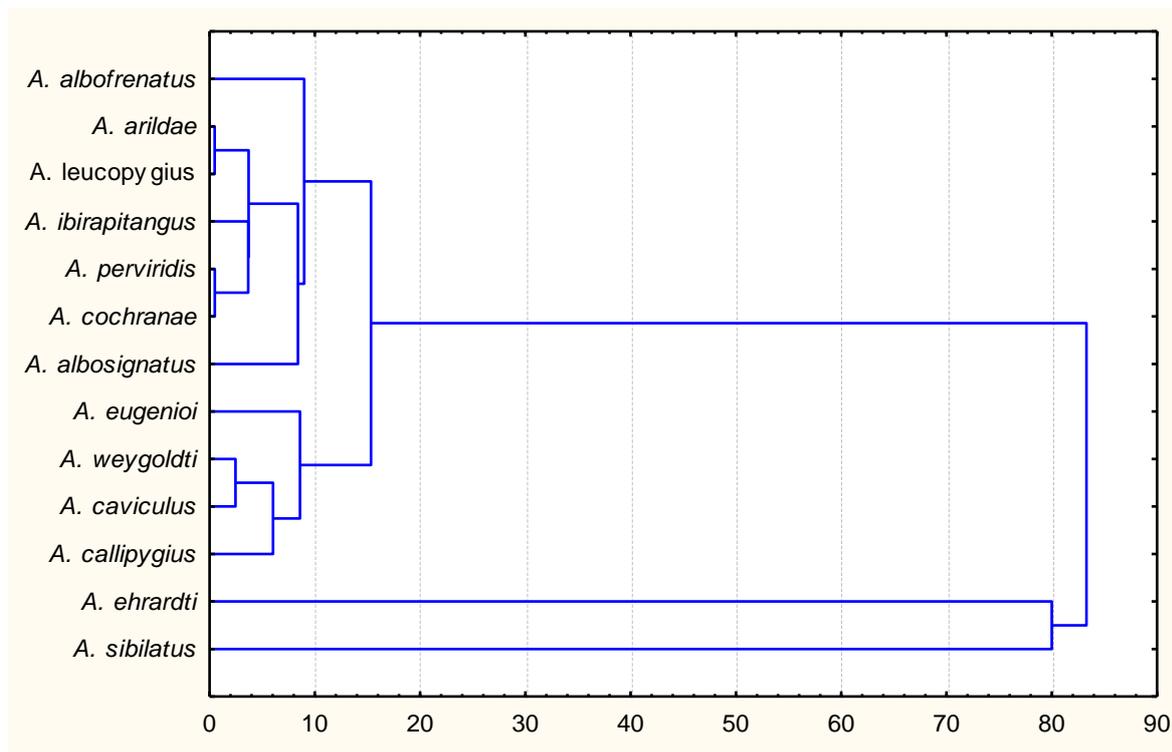


Figura 7: Árvore fenética resultante da análise de agrupamento entre parâmetros acústicos (duração do canto, taxa de repetição do canto, frequência fundamental e frequência dominante) de todas as espécies do gênero *Aplastodiscus* com o canto conhecido. Eixo vertical: espécies; eixo horizontal: distância Euclidiana.

4. Discussão

Considerando-se que os cantos de anúncio representem um mecanismo significativo de isolamento pré-zigótico, vários estudos têm realçado a importância das análises das variações do canto como ferramenta de auxílio na identificação de espécies crípticas de anuros; mesmo quando não há evidência de ocorrência simpátrica das espécies envolvidas (Fouquette, 1960; De la Riva, Márquez e Bosch 1996; Heyer e Reid 2003; Almeida e Angulo 2006; Angulo e Reichle, 2008). Também não são raras o uso de dissimilaridades acústicas como fonte de informação de caráter diagnóstico em descrições de novas espécies (*e.g.*, Haddad e Sazima, 2004).

Entretanto, o uso das análises dos cantos não é visto sem controvérsias pelos especialistas na solução de problemas taxonômicos relacionados à distinção de espécies (apresentar citações!). Como exemplo temos o trabalho com rãs do grupo *Leptodactylus pentadactylus*, realizado por Heyer, de Sá e Retting (2003). Este estudo demonstrou que duas espécies irmãs não poderiam ser separadas uma da outra com base em morfologia externa, análise morfométrica e nem pelas características de seus cantos. Parece claro que, embora haja evidências de que os cantos de anúncio de anuros sejam eficientes mecanismos de isolamento pré-zigótico (Heyer, García-Lopez e Cardoso, 1996), quando espécies irmãs não se encontram em simpatria, seus cantos podem não ter divergido após o evento de especiação (Littlejohn e Martin, 1969). Interpretações semelhantes a respeito de variação de canto são apresentadas em Duellman e Pyles (1983): “cantos de espécies alopátricas muito próximas taxonomicamente tendem a ser mais parecidos do que os cantos dessas espécies quando encontradas em simpatria, e espécies taxonomicamente próximas em simpatria, que apresentam cantos similares, não são sintópicas/ou não estão sincronizadas reprodutivamente” (tradução livre do original em inglês).

Estudos recentes com base em espécies distintas de *Aplastodiscus* também interpretaram similaridades no canto e variações de forma semelhante ao descrito acima. Quando os cantos de *A. perviridis* e *A. cochranæ* Mertens, 1952 – espécies bastante distintas, para as quais não se verifica populações em simpatria – foram comparados, Garcia, Caramaschi, e Kwet (2001) descobriram que seus cantos eram extremamente similares. Abrunhosa *et al.* (2005), ao avaliarem a similaridade acústica de seis espécies do grupo *Aplastodiscus albosignatus*, descobriram que espécies simpátricas e sintópicas (*A. ibirapinatgus* e *A. sibilatus*) apresentaram mais diferenças nos parâmetros acústicos, sendo alocadas em diferentes grupos em uma análise fenética, enquanto espécies simpátricas e não sintópicas (*A. albosignatus* e *A. leucopygius*) foram alocadas no mesmo agrupamento, tal como as espécies alopátricas (*A. callipygius* e *A. cavicolus*). No entanto, como não há uma hipótese filogenética para este grupo, os autores não foram capazes de uma afirmação mais contundente em relação à evolução do canto dentro do grupo.

A taxa de repetição do canto foi a variável que separou em três grupos a árvore fenética derivada da análise dos cantos. Taxa de repetição do canto é um parâmetro temporal do canto, que varia em função da temperatura (Ryan, 1988; Gerhardt, 1994; Howard e Young, 1998) ou de peculiaridades do contexto social (número de machos ativos nos arredores, aproximação de fêmeas, etc.), o que foi observado por Zina e Haddad (2006) para duas espécies do gênero *Aplastodiscus*. Caracteres de canto associados às variáveis temporais são evolutivamente mais instáveis do que os parâmetros espectrais, refletindo maior variação em parâmetros sob o controle comportamental-fisiológico, do que nas variáveis sob o controle morfológico (Ryan e Wilczynski, 1991). Portanto, embora tais resultados possam servir como indicação de mudanças evolutivas dentro do gênero, os mesmos devem ser vistos com cautela, ainda que haja considerável variação entre os grupos.

As frequências dominantes encontradas variam entre 2,41 e 2,93 kHz para *A. eugenioi* e entre 2,24 e 2,75 kHz para *A. albofrenatus*. As frequências fundamentais analisadas mostraram uma variação entre 1,12 e 1,90 kHz para *A. eugenioi* e de 1,19 a 1,55 kHz para *A. albofrenatus*. O sonograma original encontrado em Bokermann (1967) para *A. albofrenatus* apresenta frequência fundamental igual a 1,0 kHz. Sonogramas de *A. eugenioi* e *A. albofrenatus* revelaram o segundo harmônico como sendo o dominante na maioria dos indivíduos analisados, um estado de caráter proposto como sendo plesiomórfico para os grupos *Aplastodiscus albofrenatus* e *A. perviridis* (Orrico, Carvalho-e-Silva e Carvalho-e-Silva, 2006). O formato dos cantos é bastante semelhante visualmente no oscilograma e numericamente, variando de 0,01 a 0,43 em *A. eugenioi* e entre 0,02 e 0,34 em *A. albofrenatus*. A duração até o pico do canto em *A. albofrenatus* é geralmente bem no início do canto, aos 0,001 s (0,001 – 0,02 s); *A. eugenioi* variou de 0,001 a 0,03 s. Os dados também mostraram que *A. albofrenatus* canta mais vezes por minuto (42 cantos/minuto) do que *A. eugenioi* (13 cantos/minuto), resultado semelhante ao que foi apresentado por Bokermann (1967), 40 cantos/minuto. *Aplastodiscus albofrenatus* emitiu cantos mais curtos e estes foram repetidos mais vezes por minuto, em média, do que em qualquer outra das três populações estudadas de *A. eugenioi*. Os cantos de *A. eugenioi* analisados neste estudo apresentaram resultados semelhantes àqueles de Orrico, Carvalho-e-Silva e Carvalho-e-Silva (2006). As variações sutis encontradas no presente estudo e na literatura (Orrico, Carvalho-e-Silva e Carvalho-e-Silva, 2006) ocorreram, possivelmente, devido à diferente metodologia empregada no campo e nas análises, além de equipamentos de gravação e programas de análise acústica distintos.

Os parâmetros espectrais não separaram *A. albofrenatus* das outras duas populações de *A. eugenioi*, em Picinguaba e Itaguaí. A localidade de Guapimirim apresentou diferenças quanto a parâmetros espectrais. O tamanho dos indivíduos pode influenciar estas variáveis

(Gerhardt, 1991). No entanto, dados sobre massa e comprimento rostro-cloacal não foram obtidos neste estudo. Desta forma, meu estudo concluiu que, possivelmente, o tamanho dos machos teve influência nesta diferença detectada. No geral, as análises só indicaram que *A. albofrenatus* apresenta diferenças significativas quando comparado com *A. eugenioi* em relação aos parâmetros temporais. Entretanto, as variáveis temporais, quando comparadas numa análise de agrupamento, não apresentaram similaridade suficiente para serem pareadas como grupo. Possivelmente, por estas variáveis dependerem da temperatura e de aspectos sociais, as variações entre os cantos examinados estejam relacionadas a este fato, e não à distância filogenética das espécies envolvidas.

Apesar de os cantos de anúncio de *A. eugenioi* e *A. albofrenatus* serem extremamente semelhantes, algumas diferenças foram detectadas. Assim, embora cantos sejam considerados relevantes e confiáveis como mecanismo de isolamento sexual pré-zigótico (Blair, 1964; Angulo and Reichle, 2008; Lemmon, 2009), me abstenho de qualquer ação taxonômica (como sinonimizar *Aplastodiscus eugenioi* a *A. albofrenatus*) baseada unicamente neste conjunto de dados. Considero que investigações adicionais, utilizando dados moleculares e morfológicos, são necessárias para que uma decisão mais segura possa ser tomada.

5. Referências Bibliográficas

- Abrunhosa, P.A., Pimenta, B.V.S., Cruz, C.A.G., Haddad, C.F.B. (2005): Advertisement Calls of Species of the *Hyla albosignata* Group (Amphibia, Anura, Hylidae) Arq. Mus. Nac. (Rio de Janeiro), Rio de Janeiro, **63** (2): 275-282.
- Almeida A.P., Angulo, A. (2006): A new species of *Leptodactylus* (Anura: Leptodactylidae) from the state of Espírito Santo, Brazil, with remarks on the systematics of associated populations. Zootaxa **1334**: 1–25.

- Angulo, A.; Reichle, S. (2008): Acoustic signals, species diagnosis, and species concepts: the case of a new cryptic species of *Leptodactylus* (Amphibia, Anura, Leptodactylidae) from the Chapare region, Bolivia. *J. Linn. Soc. London, Zool.*, v. **152**, n. 1, p. 59-77.
- Bioacoustics Research Program. (2011). Raven Pro: Interactive Sound Analysis Software (Version 1.4) [Computer software]. Ithaca, NY: The Cornell Lab of Ornithology.
- Blair W.F. (1964): Isolating mechanisms and interspecies interactions in anuran amphibians. *Q. Rev. Biol.* **39**: 334–344.
- Bokermann, W.C.A. (1967). Notas sobre cantos nupciais de anfíbios brasileiros. I. (Anura). *An. Acad. Bras. Ciênc.*, **39** (3/4): 438-443.
- Carvalho-e-Silva, A.M.P.T., Carvalho-e-Silva S.P. (2005): New Species of the *Hyla albofrenata* Group, from the States of Rio de Janeiro and São Paulo, Brazil (Anura, Hylidae) *J. Herpetol.*, **39** (1): 73-81.
- Carvalho JR., R. R., Galdino, C. A., Nascimento, L. B. (2006): Notes on the courtship behavior of *Aplastodiscus arildae* (Cruz & Ceixoto, 1985) at an urban forest fragment in Southeastern Brazil (Amphibia, Anura, Hylidae). *Arq. Mus. Nac. (Rio de Janeiro)*, **64**(3), 247-254.
- Clarke K.R. (1993): Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *J. Ecol.* **18**(1):117-143.
- Clarke K.R., Warwick R.M. (1994): *Change in Marine Communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. Publ. - Nat. Environ. Res. Council., Ser. D (U. K.), United Kingdom.
- Conte, C.E., Lingnau R., Kwet A. (2005): Description of the advertisement call of *Hyla ehrhardti* Müller, 1924 and new distribution records (Anura: Hylidae). *Salamandra, Rheinbach*, **41** (3): 147-151.

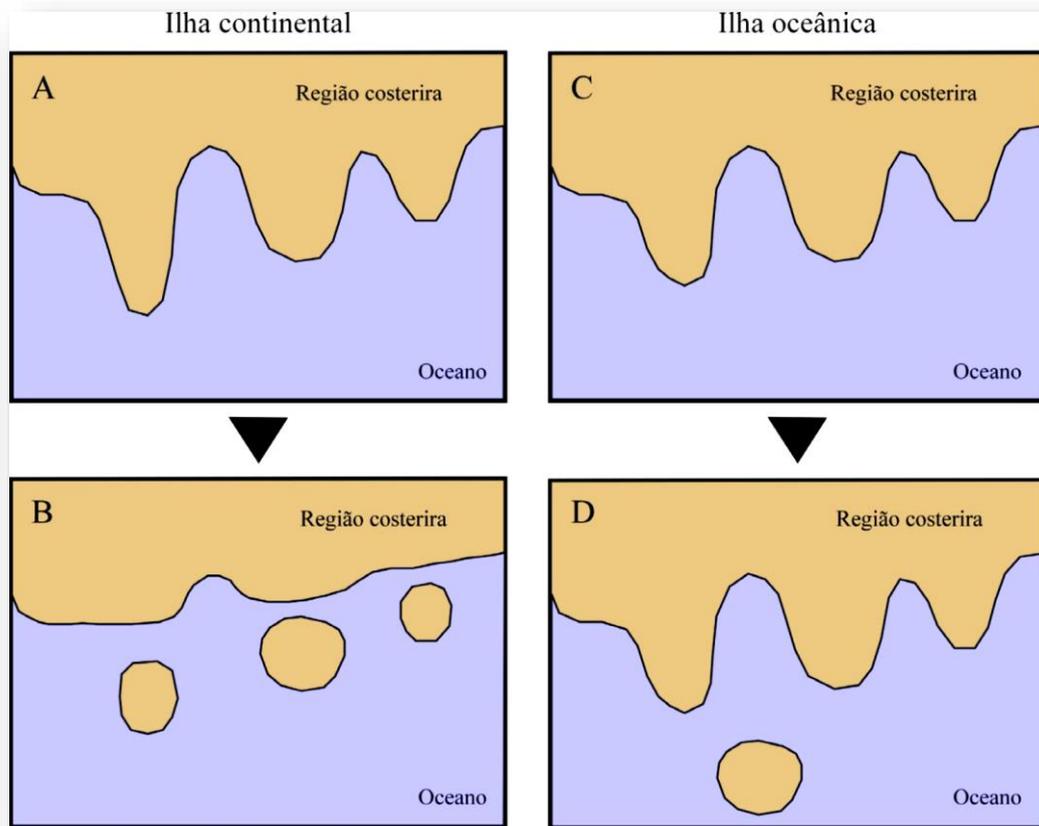
- De la Riva, I., Márquez, R., Bosch, J. (1996): The advertisement calls of three South American poison frogs (Amphibia: Anura: Dendrobatidae), with comments on their taxonomy and distribution. *J. Nat. Hist.*, **30:9**, 1413-1420.
- Duellman, W.E., Pyles, R.A. (1983): Acoustic Resource Partitioning in Anuran Communities, *Copeia*, Lawrence, **3**: 639-649.
- Faivovich, J., C.F.B. Haddad, Garcia, P.C.A., Frost, D.R., Campbell, J.A., Wheeler, W.C. (2005). Systematic review of the frog family Hylidae, with special reference to Hylinae: Phylogenetic analysis and taxonomic revision. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.*, New York, **294**: 1-240.
- Fouquette, M.J. (1960). Isolating mechanisms in three sympatric treefrogs in the canal zone. *Evolution*, **14(4)**, 484-497.
- Frost, D.R. (2013): Amphibian Species of the World. Version 5.5. (23 January, 2013). Electronic Database accessible at: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/> American Museum of Natural History, New York, USA.
- Garcia, P.C.A., Caramaschi, U., Kwet, A. (2001): The taxonomic status of the *Hyla cochranae* Mertens and recharacterization of *Aplastodiscus* A. Lutz (Anura, Hylidae). *Rev. Bras. Zool.*, **18**, n. 4, p. 1197-1218.
- Gerhardt, H.C. (1994): The evolution of vocalization in frogs and toads. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **25**: 293-324.
- Gerhardt, H. C. (1991). Female mate choice in treefrogs: static and dynamic acoustic criteria. *Anim. Behav.*, **42(4)**: 615-635.
- Gerhardt, H.C. (1998): Acoustic signals of animals: recording, field measurements, analysis and description. *In*: p.1-57, Hopp, S.L., Owren, M.J.; Evans, C.S. (Eds.) *Animal Acoustic Communication: Sound Analysis and Research Methods*. New York: Springer-Verlag.

- Gridi-Papp, M (ed.). 2003 - 2007. SoundRuler: Acoustic Analysis for Research and Teaching.
- Hartmann, M.T.; Hartmann, P.A., Haddad, C.F.B. (2004): Visual signalling and reproductive biology in a nocturnal treefrog, genus *Hyla* (Anura: Hylidae). *Amphibia-Reptilia*, **25**: 395-406.
- Haddad, C.F.B., Sazima, I. (2004): A new species of *Physalaemus* (Amphibia; Leptodactylidae) from the Atlantic forest in southeastern Brazil. *Zootaxa*, **479**: 1-12.
- Heyer, R.W., García-Lopez, J.M.; Cardoso, A.J. (1996). Advertisement call variation in the *Leptodactylus mystaceus* species complex (Amphibia: Leptodactylidae) with a description of a new sibling species. *Amphibia-Reptilia*, **17**: 7-31.
- Heyer, R.W., Reid, Y.R. (2003): Does advertisement call variation coincide with genetic variation in the genetically diverse frog taxon currently known as *Leptodactylus fuscus* (Amphibia: Leptodactylidae)? *An. Acad. Bras. Cienc.*, **75**: 39-54.
- Heyer, W.R.; De Sá, R.O.; Rettig, A. (2003). Sibling species, advertisement calls, and reproductive isolation in frogs of the *Leptodactylus pentadactylus* species cluster (Amphibia, Leptodactylidae). *In*: pp. 35-39, Ananjeva N., Tsinenko O. (Eds.). *Herpetologica Petropolitana-Proceedings of the 12th Ordinary General Meeting of the Societas Europaea Herpetologica*. St. Petersburg, Russia: SHE.
- Howard, R. D., & Young, J. R. (1998). Individual variation in male vocal traits and female mating preferences in *Bufo americanus*. *Anim. Behav*, **55(5)**: 1165-1179.
- Lemmon, E. M. (2009): Diversification of conspecific signals in sympatry: geographic overlap drives multidimensional reproductive character displacement in frogs. *Evolution*, **63(5)**: 1155-1170.

- Littlejohn, M. J., & Martin, A. A. (1969). Acoustic interaction between two species of leptodactylid frogs. *Anim. Behav.*, **17**(4): 785-791.
- Lutz, A. (1924). Sur les Rainettes des Environs de Rio de Janeiro. *C. R. Soc. Biol.* 90, 3, 241.
- Orrico, V.G.D., Carvalho-e-Silva, A.M., Carvalho-e-Silva, S.P. (2006): Redescription of the advertisement call of *Aplastodiscus arildae* (Cruz & Peixoto) and description of the call of *Aplastodiscus weygoldti* (Cruz & Peixoto) with general notes about the genus in Southeastern Brazil (Anura, Hylidae). *Rev. Bras. Zool.*, **23**: 994-1001.
- Ryan, M. J. (1988). Constraints and patterns in the evolution of anuran acoustic communication. *In*: pp. 637-677, Fritsch, B., Ryan, M.J., Wilczynski, W., Hetherington, T. E., Walkowiak, W. (Eds.). *The evolution of the amphibian auditory system*. New York: Wiley.
- Ryan, M. J., Wilczynski, W. (1991): Evolution of intraspecific variation in the advertisement call of a cricket frog (*Acris crepitans*, Hylidae). *Biol. J. Linn. Soc.*, **44**(3): 249-271.
- Salles, R.O.L., Pontes, R.C., Silva-Soares, T. (2012): New records and geographic distribution of *Aplastodiscus eugenioi* (Anura: Hylidae) in southeastern Brazil. *Herpetology Notes*, **5**: 431-433.
- Tárano, Z. (2001): Variation in male advertisement calls in the Neotropical frog *Physalaemus enesevae*. *Copeia*, **4**: 1064-1072.
- Zina, J., Haddad, C.F. (2006). Acoustic repertoire of *Aplastodiscus arildae* and *A. leucopygius* (Anura: Hylidae) in Serra do Japi, Brazil. *S. Am. J. Herpetol.*, **1**(3): 227-236.

Capítulo II

Análise do canto de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi* (Anura: Hylidae) em populações de ilhas continentais



Modificado de Montesinos *et al.* 2012

Seropédica

2013

Resumo

Devido ao tamanho reduzido (quando comparado ao dos continentes) e isolamento geográfico, as ilhas são consideradas laboratórios naturais para estudos evolutivos em espaços de tempo relativamente curtos. Por esta razão, estudos de fauna e flora insulares são considerados chaves para compreensão de diversos fenômenos biológicos relevantes para compreensão do processo de evolução em diferentes escalas. O estudo foi desenvolvido entre 2005 e 2013 em quatro áreas distintas, sendo uma localizada no continente e três em ilhas. A hipótese avaliada é a de existência de variações nos parâmetros acústicos do canto de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi* (Hylidae) devido ao isolamento geográfico dessas populações. Foram medidos sete parâmetros acústicos do canto de anúncio de 42 machos, 10 indivíduos do continente e 32 das ilhas, nenhuma distinção evidente foi encontrada entre as quatro populações. O coeficiente de variação interindividual apontou a maior variação no formato do canto, enquanto a menor foi observada na frequência dominante, seguida pela frequência fundamental. Os resultados parecem indicar que o tempo de isolamento ainda não é o suficiente para que variações no canto sejam detectáveis pelas análises acústicas. Portanto, apesar da indiscutível eficácia dos cantos de anúncio como objetos de estudo da evolução de espécies em ilhas continentais, sugiro que novos estudos complementares sejam feitos utilizando-se morfometria e/ou morfologia, além de marcadores moleculares como ferramentas. Desta forma, variações mais sutis na biologia destes anuros poderão ser detectadas mais precisamente.

Palavras-chave: Anfíbios; Biogeografia de ilhas; canto; variação; evolução.

Abstract

Because the reduced size (when compared to continents) and the geographic isolation, islands are considered natural laboratories for evolutionary studies in relatively brief periods. Thus, insular fauna and flora studies are considered determinants in order to comprehend the various biologic phenomena relevant to understand the evolution process in different scales. This study was developed between 2005 and 2013 in four distinct areas, one within the continent and the three others in islands. The hypothesis tested is the existence of acoustic parameters variation within the advertisement call of *Aplastodiscus eugenioi* (Hylidae) due to geographic isolation of populations. I measured seven acoustic parameters of the advertisement call of 42 males, 10 specimens from continent and 32 from the islands, there were no evident distinction among the four populations. The interindividual coefficient of variation detected broader variation in call shape, whereas the narrower was observed in dominant frequency, followed by fundamental frequency. Results may indicate that isolation time is not yet sufficient, thus it is difficult to detect any variation in acoustic analyses. Therefore, in spite of the unquestionable efficiency of advertisement calls as study objects of species evolution in continental islands, I suggest that further investigations using morphometry and/or morphology, in addition to molecular data as tools. This way subtle variations related to these anurans biology could be more precisely detected.

Keywords: Advertisemnt call; amphibians; evolution; island biogeography; variation.

1. Introdução

Devido ao tamanho reduzido (quando comparado ao dos continentes) e isolamento geográfico, as ilhas são consideradas laboratórios naturais para estudos evolutivos em espaços de tempo relativamente curtos (Jordan e Snell, 2008). Nas ilhas podem-se avaliar tanto processos que afetam a fisiologia de espécies (Velo-Antón *et al.*, 2012) e expansões demográficas de populações (Carnaval e Bates, 2007), quanto a estrutura de comunidades (Hasegawa *et al.*, 2009). Por esta razão, estudos de fauna e flora insulares são considerados chaves para compreensão de diversos fenômenos biológicos relevantes para compreensão do processo evolutivo em diferentes escalas (Barton e Mallet, 1996). Mais recentemente, as ilhas também ganharam destaque na formulação de ideias e conceitos relativos à conservação de diversidade biológica (Nogales *et al.*, 2003; Péres Jr., 2003; Howald *et al.*, 2007), por conta das relações entre espécies e área (MacArthur e Wilson, 1967).

Entre os casos mais clássicos da relação entre fauna insular e evolução das espécies, pode-se citar os tentilhões do arquipélago de Galápagos, que serviram de modelo para Darwin (1859), ajudando-o a elucidar parte das questões envolvendo ancestralidade comum, mudanças morfológicas e adaptações.

Os dois tipos de ilha mais relevantes para estudos biogeográficos são as ilhas oceânicas e as ilhas continentais. As ilhas oceânicas são formadas por processos vulcânicos, distantes da costa continental e no meio dos oceanos (Nunn, 1994). Estas ilhas são colonizadas por espécies vegetais e, posteriormente, por animais, que se dispersaram do continente e alcançaram estas ilhas ao acaso (MacArthur e Wilson, 1967). As ilhas continentais se formam perto da costa ou dentro de grandes lagos continentais devido às transgressões marinhas resultantes do aquecimento global (Hewitt, 2000). Os organismos de fauna e flora já se encontravam nestas ilhas antes dos processos transgressivos. Assim, estas

populações passam a sofrer as pressões seletivas devido ao isolamento. Considerando que os anuros apresentam pouca vagilidade e alta sensibilidade à salinidade, a ocorrência destes em ilhas oceânicas é pouco documentada (*e.g.*, Measey *et al.*, 2007; Jang *et al.*, 2011). Desta forma, as investigações envolvendo populações de anuros isolados em ilhas são desenvolvidas, em sua maioria, nas ilhas continentais.

Entre as possibilidades de investigações oferecidas pela fauna insular, destaca-se o estudo de divergências comportamentais em grupos onde a seleção intersexual é bem difundida entre as espécies, como no caso de aves, em que a fêmea tem papel preponderante na seleção de fenótipos e *displays* dos machos (Kirkpatrick e Ryan, 1991) e dos anfíbios anuros, em que as fêmeas exercem forte seleção sobre propriedades acústicas envolvidas com um alto gasto energético (Gerhardt e Huber, 2002) e que podem estar correlacionadas ao tamanho (Gerhardt, 1991; Howard e Young, 1998), vigor (Gerhardt, 1991) ou genes presentes nos machos (Pröhl *et al.* 2006). Na maioria das espécies de anuros, o canto de anúncio de machos é o comportamento que possibilita às fêmeas selecionarem seus parceiros para reprodução (Blair e Littlejohn, 1960; Wilczynski e Ryan, 1991; Gerhardt, 1994; Heyer, García-Lopez e Cardoso, 1996). O canto pode variar geograficamente entre populações da mesma espécie (Ryan *et al.*, 1996; Sinsch e Schneider, 1996; Bernal *et al.*, 2005; Pröhl *et al.*, 2006), indicando tanto o potencial para processos evolutivos quanto o passado histórico de seleção e restrições (Ryan *et al.*, 1996).

As populações que persistem em ilhas continentais são isoladas por vicariância, por isso, em um primeiro momento, apresentam uma população maior do que as populações colonizadoras das ilhas oceânicas. Assim, os efeitos da deriva genética e, conseqüentemente, o declínio populacional não são tão imediatos. Entretanto, em longo prazo, a deriva genética pode atuar de forma significativa, pois as áreas das ilhas continentais são normalmente

menores em relação às ilhas oceânicas, e nos casos de organismos que dispersam pouco, as populações permanecerão pequenas e isoladas (Clegg *et al.* 2002; Velland, 2003; Bell *et al.* 2012).

Atualmente, estudos com populações de anfíbios e répteis insulares têm tentado compreender os efeitos do processo de isolamento, mesmo em ilhas continentais isoladas mais recentemente. Velo-Antón *et al.* (2012) indicam a importância de populações de ilhas continentais para se testar os processos evolutivos operando nos estágios iniciais da diferenciação de espécies recentemente isoladas da população fonte. Neste sentido, o emprego de técnicas moleculares, que se tornaram disponíveis a partir do final do Século XX, tem sido comuns. Os estudos de Barton (1996), Duryea *et al.* (2008), Fitzpatrick *et al.* (2009) e Bell *et al.* (2012) são alguns dos exemplos com anfíbios. Jordan e Snell (2008) tiveram lagartos como objeto de estudo, enquanto Grazziotin *et al.* (2006) utilizaram viperídeos como modelo. Embora, como demonstrado por Littlejohn (1964, 1965), o canto de anúncio possa variar em populações insulares isoladas há 12 mil anos, ao final do último máximo glacial, poucos foram os estudos que exploraram essas variações em faunas de outras ilhas (Jang *et al.*, 2011). Outros trabalhos têm explorado o tema, através de estudos de populações isoladas em ambientes insulares no continente, como aquelas isoladas pelo soerguimento de montanhas (Littlejohn, 1968; Ryan e Wilczynski, 1991; Hoskin *et al.*, 2005; Padial *et al.*, 2008; Ohmer *et al.*, 2008).

Neste capítulo, investigo a existência de variações nos parâmetros acústicos do canto de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi* (Hylidae), devido ao isolamento geográfico de populações em três ilhas continentais da Costa Verde do Estado do Rio de Janeiro, através da análise comparativa com a população continental de Itaguaí. Embora estas ilhas sejam bem próximas da costa e umas das outras, características associadas à biologia reprodutiva desta

espécie (reproduzem-se em riachos de floresta e áreas adjacentes; veja Carvalho-e-Silva e Carvalho-e-Silva, 2005) tornam a possibilidade de dispersão e conexão entre essas populações bastante remota. Portanto, cada uma das populações é considerada isolada das outras, e todas do continente, desde que os fenômenos de elevação do nível médio marinho isolaram essas ilhas, há aproximadamente 10 mil anos (Montesinos *et. al.*, 2012).

2. Materiais e Métodos

2.1. Área de Estudo

O estudo foi desenvolvido entre 2005 e 2013 em quatro áreas distintas, sendo uma localizada no continente e três em ilhas. A área continental amostrada é próxima à Represa do Itingussú (22°54'3.44"S; 43°53'34.59"W, em torno de 160 m acima do nível do mar), no município de Itaguaí, Estado do Rio de Janeiro, cerca de 10 km a leste da localidade tipo da espécie (Serra do Piloto, Mangaratiba, RJ) e, também, a mais próxima das ilhas continentais amostradas (Figura 1). As gravações de *Aplastodiscus eugenioi* do município de Guapimirim não foram utilizadas porque as análises realizadas no capítulo anterior indicaram se tratar de uma população bem distinta, o que poderia afetar os resultados deste conjunto de análises. As gravações da população de Picinguaba também foram excluídas destas análises. Neste caso, a justificativa relaciona-se ao tamanho amostral, que é muito menor do que as amostras obtidas e analisadas aqui.

As ilhas foram incluídas com base em análise prévia da ocorrência de populações de *A. eugenioi* (Bittencourt-Silva e Silva, 2013). São elas: Ilha Grande, Vila do Abraão (23°08'02,7"S; 44°10'23,3"W, ao nível do mar), município de Angra dos Reis; Ilha da Marambaia (23°04'23''S; 43°58'12''W, ao nível do mar), município de Mangaratiba; e Ilha de Itacuruçá, Vila da Gamboa (22°56'01''S; 43°53'00''W, ao nível do mar), também pertencente ao município de Mangaratiba. As ilhas da Marambaia e de Itacuruçá localizam-se

na Baía de Sepetiba, enquanto a Ilha Grande situa-se na entrada das Baías de Sepetiba e da Ilha Grande. As três ilhas possuem paisagem similar, com riachos permanentes, matas e florestas em razoável estado de conservação (Bittencourt-Silva e Silva, 2013). É nos ambientes florestais, cortados por riachos de pequeno e médio porte que *A. eugenioi* vocaliza e constrói os ninhos nos barrancos onde a reprodução tem lugar (Hartmann, Hatrmann, e Haddad, 2004; observação pessoal).

Depois de um longo período glacial, que durou cerca de 90 mil anos e que, entre outras consequências, resultou na diminuição do nível médio marinho em mais de 100 m, expondo a plataforma continental brasileira há cerca de 17,500 AP (anos antes do presente), o nível médio marinho dos oceanos voltou a se elevar (Suguo *et. al.*, 1988). Como resultado, próximo à costa, alguns picos de morros mais altos tornaram-se isolados e formaram as ilhas costeiras, como é o caso das ilhas aqui estudadas (Montesinos *et. al.*, 2012). A variação do nível do mar se deu de forma gradual, assim, os processos de isolamento dessas ilhas e o continente ocorreram em épocas distintas, resultando em ilhas de idades diferentes, dependendo da distância e da profundidade dos canais responsáveis pela separação entre elas e entre as ilhas e a costa. Portanto, com um canal de aproximadamente 55 m de profundidade, que separa a Ilha Grande do continente, esta foi a primeira ilha a ser isolada, há cerca de 10,000 AP. A Ilha da Marambaia foi a segunda a ser desconectada e a Ilha de Itacuruçá, a última. Ambas separaram-se do litoral cerca de 7000 AP. Embora a Ilha da Marambaia esteja conectada ao continente por uma faixa estreita de areia desde a última regressão marinha (~3500 AP), a restinga ali presente não parece representar uma ponte para dispersão das espécies de floresta, principalmente aquelas ligadas a riachos, como é o caso da espécie aqui estudada (Silva *et al.*, 2008).

Por este motivo, considerei no presente estudo a paleo-ilha da Marambaia como uma ilha, assim como fizeram Montesinos *et. al* (2012).

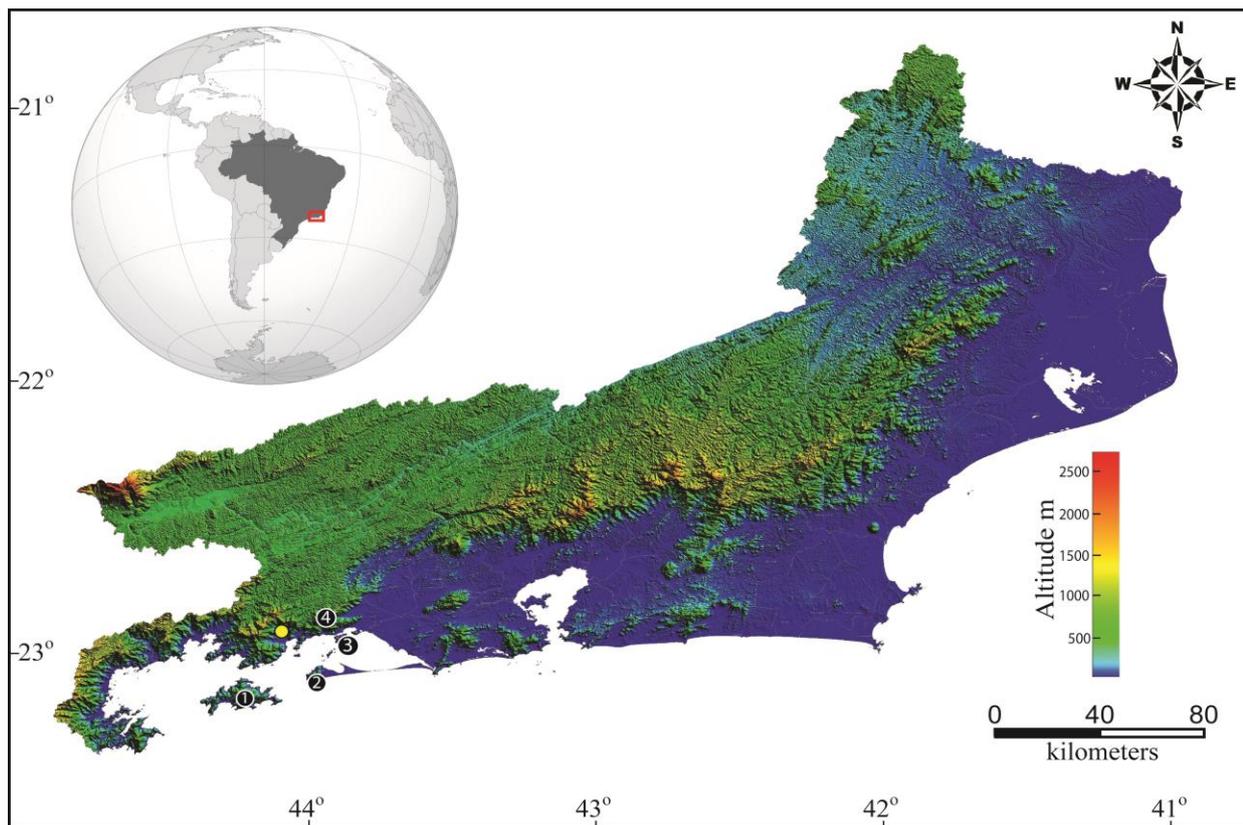


Figure 2: Mapa do Estado do Rio de Janeiro mostrando as localidades onde foram feitas gravações de *Aplastodiscus eugenioi*: (1) Ilha Grande, (2) Ilha da Marambaia, (3) Ilha de Itacuruçá, (4) Itaguaí. Em amarelo Mangaratiba, localidade tipo.

2.2. A Espécie Estudada

O gênero *Aplastodiscus* Lutz (1950) está distribuído desde a região central e o sudeste do Brasil até áreas adjacentes da Argentina (Frost, 2013). Atualmente este gênero divide-se em três grupos: *A. albosignatus*, *A. perviridis* e *A. albofrenatus* (Faivovich *et al.*, 2005). *Aplastodiscus eugenioi* (Carvalho-e-Silva & Carvalho-e-Silva 2005) pertence ao grupo de *A. albofrenatus*. Trata-se de uma espécie endêmica da Mata Atlântica, associada a riachos de matas e florestas. Apresenta registros nos municípios de Ubatuba e Caraguatatuba, Estado de São Paulo, e nos municípios de Mangaratiba (localidade tipo), Angra dos Reis, Duque de Caxias, Engenheiro Paulo de Frontin, Magé, Nova Iguaçu e Parati, todos no Estado do Rio de Janeiro. Recentemente teve sua distribuição ampliada para dois novos municípios:

Cachoeiras de Macacu e Guapimirim, ambas no Estado do Rio de Janeiro (Salles, Pontes e Silva-Soares, 2012).

2.3. Gravação e Análise dos Cantos

As gravações do canto de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi*, em diferentes localidades da Mata Atlântica, foram feitas em uma sequência de três minutos, com o uso de um gravador digital Marantz PMD 660 e um microfone Sennheiser (e835S). Quando capturados após gravação de seu canto, os machos tinham seu comprimento rostro-cloacal (CRC) medido com um paquímetro de 0,1 mm de precisão, e sua massa aferida com um dinamômetro de 0,1 g de precisão. Espécimes testemunho de Itaguaí, Ilha Grande, Ilha da Marambaia e Ilha de Itacuruçá foram depositados na Coleção Herpetológica da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

Os cantos foram digitalizados com uma frequência de amostragem de 44 kHz e 16 bits de resolução e, posteriormente, analisados nos programas computacionais Raven Pro Versão 1.4 e SoundRuler Versão 0.9.4.1.

Foram medidos sete parâmetros acústicos do canto de anúncio: duração do canto (s), taxa de repetição do canto (número de cantos por minuto), duração até o pico (s) (corresponde ao *peak time*: tempo desde o início do canto até o ponto de máxima amplitude; ver Tárano, 2001), formato do canto (razão entre a duração até o pico e a duração do canto, este parâmetro fornece a forma do envelope: linear, exponencial ou exponencial inversa; ver Gerhardt, 1998), frequência fundamental (kHz), frequência dominante (kHz) e modulação de frequência (kHz; diferença entre a frequência dominante final e a frequência dominante inicial). Os quatro primeiros parâmetros são temporais e os três últimos são parâmetros espectrais. Oscilogramas, sonogramas e espectros de potência foram produzidos com uso do Sound Ruler Version 0.9.4.1 (FFT = 256; O = 90%; Hanning).

A variação para cada parâmetro acústico entre indivíduos da mesma população foi calculada pelo coeficiente de variação interindividual ($CV_{\text{inter}} = \bar{x}_{DP} / \bar{x}_{\text{médias}}$). O coeficiente de variação é utilizado para comparar a variabilidade de atributos comportamentais que diferem em valores médios (Gerhardt, 1991). Parâmetros acústicos com baixa variação entre indivíduos foram classificados como estáticos (inferiores a 11%). Os parâmetros com valores entre 12% e 14% foram considerados intermediários, enquanto parâmetros com alta variabilidade foram classificados como dinâmicos (superiores a 15%; ver Gerhardt, 1991). Modulação de frequência é uma variável que possui valores positivos e também negativos. Por se tratar de um parâmetro que apresenta grande variação de valores, optei por não incluí-lo nos cálculos da variação interindividual.

2.4. Análises Estatísticas

Para testar a hipótese nula, de que o canto não varia de forma significativa entre o continente e as ilhas, utilizei técnicas multivariadas. Primeiramente, todos os dados foram padronizados (centrados e reduzidos) para tornarem-se adimensionais. Isto foi feito porque alguns parâmetros apresentavam valores negativos. Para criar uma matriz normalizada de Distância Euclidiana foi utilizado o Plymouth Routines in Multivariate Ecological Research (PRIMER) “software package” (Clarke & Warwick 1994) Versão 6. Essa matriz foi submetida a análises de ordenação multidimensional (MDS). Quanto menores os valores de estresse melhor, e valores variando entre 0,1 e 0,2 podem ser usados (Clarke, 1993).

3. Resultados

O canto de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi* consiste em uma única nota tonal repetida com intervalos irregulares. No continente, o canto de anúncio de *A. eugenioi*, apresentou duração mediana (os dados não atendiam todos os requisitos de normalidade) de 0,08 s (N = 98 cantos), totalizando média de 13 cantos por minuto e frequência dominante

variando entre 2,41 e 2,89 kHz. Nas ilhas, o canto de anúncio de *A. eugenioi* apresentou uma duração mediana de 0,09 s (N = 283), média de 17 cantos por minuto e frequência dominante variando entre 2,25 e 2,93 kHz.

A tabela 1 apresenta um resumo descritivo dos parâmetros acústicos dos cantos de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi* nas ilhas e no continente.

O canto de anúncio de *A. eugenioi* possui forma de envelope exponencial inverso (Figura 2). O momento de pico de energia ocorre bem no início do canto, decaindo lentamente após atingir esse pico (Figura 2). Análises do sonograma e do espectro de potência indicam o segundo harmônico como sendo o harmônico dominante (90% no continente, N = 98 cantos e 92% nas ilhas, N = 283 cantos).

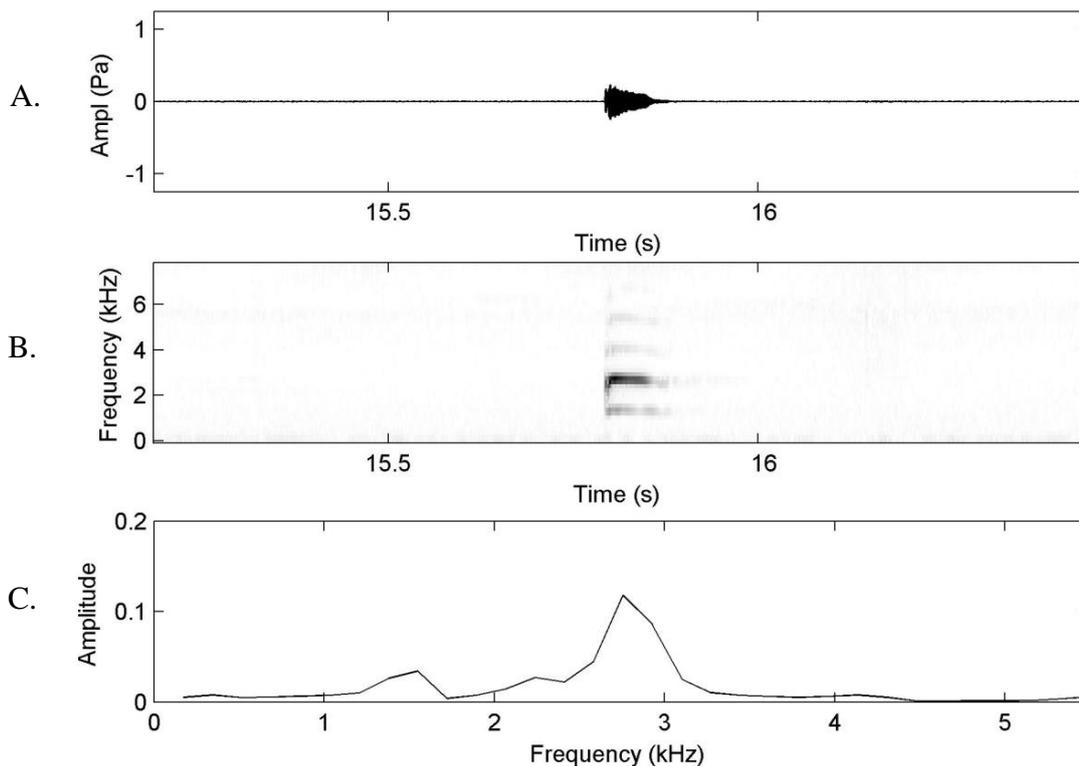


Figura 2: Canto de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi* gravado em Itaguaí, Rio de Janeiro: (A) oscilograma, (B) sonograma e (C) espectro de potência.

Tabela 1. Parâmetros acústicos do canto de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi* para as quatro localidades (Itaguaí, Ilha da Marambaia, Ilha Grande e Ilha de Itacuruçá). Resultados apresentados como: média \pm desvio padrão (amplitude); exceto modulação de frequência, frequência dominante e frequência fundamental, para os quais os valores correspondentes à mediana.

	<i>Continente</i>		<i>Ilhas</i>	
	<i>Itaguaí</i>	<i>Marambaia</i>	<i>Ilha Grande</i>	<i>Itacuruçá</i>
Duração do canto (s)	0,10 \pm 0,02 (0,06–0,12)	0,09 \pm 0,03 (0,06-0,21)	0,08 \pm 0,02 (0,05-0,15)	0,09 \pm 0,01 (0,06-0,11)
Taxa de repetição (cantos/minuto)	13,08 \pm 6,60 (3–26)	14,60 \pm 5,47 (6-30)	18 \pm 7,4 (5-31)	18 \pm 7,81 (9-23)
Duração até o pico (s)	0,01 \pm 0,01 (0,002–0,03)	0,01 \pm 0,01 (0,001-0,03)	0,01 \pm 0,01 (0,001-0,03)	0,01 \pm 0,003 (0,002-0,03)
Formato do Canto	0,13 \pm 0,04 (0,02–0,30)	0,12 \pm 0,06 (0,01-0,33)	0,12 \pm 0,08 (0,01-0,44)	0,1 \pm 0,05 (0,02-0,48)
Frequência Fundamental (kHz)	1,38 (1,29–1,68)	1,33 (1,20-1,46)	1,38 (1,19-1,54)	1,24 (1,20-1,37)
Frequência Dominante (kHz)	2,75 (2,41–2,89)	2,58 (2,84-2,35)	2,58 (2,25-2,93)	2,41 (2,32-2,75)
Modulação de frequência (kHz)	0 (-0,34–0,34)	0 (-0,17-0,17)	0 (-17-0,34)	0 (-0,87-0,17)
N (cantos; indivíduos)	98; 10	154; 16	100; 10	29; 6

O MDS dos parâmetros temporais e espectrais não resultou em uma distinção evidente das quatro populações: Itaguaí (continente); Ilha de Itacuruçá, Ilha Grande e Ilha da Marambaia. A representação gráfica do MDS não apresenta qualquer padrão de distribuição que possibilite a separação segura entre os indivíduos de ilha e continente (Figuras 3 e 4). Testando-se, separadamente, os parâmetros temporais e espectrais, também não houve qualquer distinção. O nível de estresse (= 0,13) se mostrou dentro do intervalo considerado aceitável (entre 0,1 e 0,2; Clarke 1993).

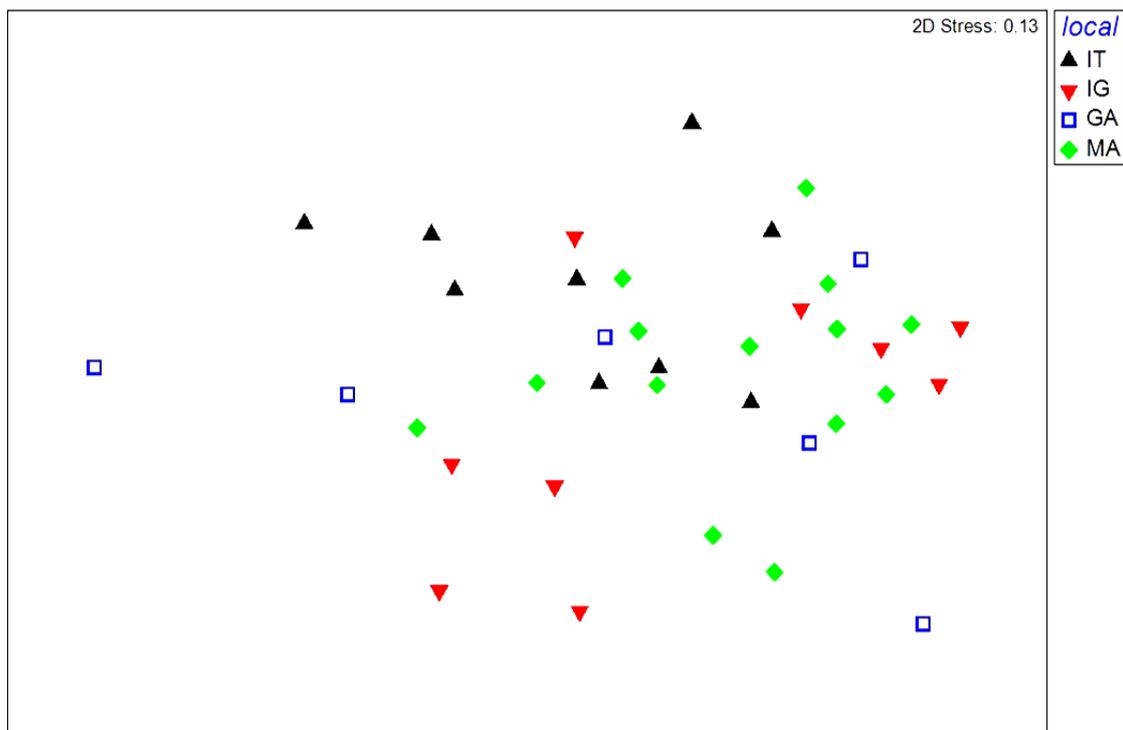


Figura 3: Plotagem do MDS dos parâmetros acústicos do canto de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi*. Onde: IT: Itaguaí; IG: Ilha Grande; GA: Gamboa (Ilha de Itacuruçá); MA: Ilha da Marambaia.

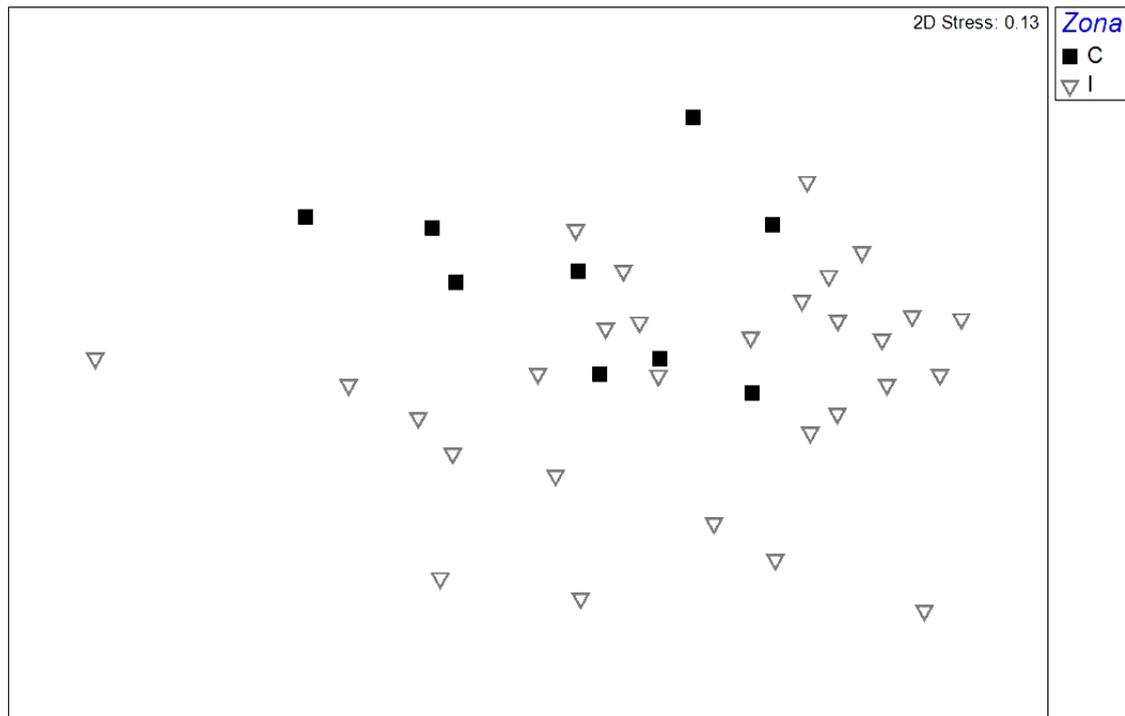


Figura 4: Plotagem do MDS dos parâmetros acústicos do canto de anúncio de *Aplastodiscus eugenioi* de C: Continente e I: Ilhas.

De acordo com o coeficiente de variação (CV_{inter}), a maior variação foi encontrada no formato do canto, enquanto que a menor variação apresentou-se na frequência dominante, seguida pela frequência fundamental. Os dois últimos parâmetros, assim como a duração do canto, foram classificados como estáticos. A taxa de repetição do canto apresentou variação intermediária, enquanto formato do canto e duração até o pico apresentaram uma variação alta. Por este motivo, estes parâmetros foram considerados dinâmicos.

A tabela 2 apresenta, mais detalhadamente, os resultados do coeficiente de variação (CV_{inter}) de *A. eugenioi*, em Itaguaí.

Tabela 2. Valores da variação interindividual dentro da população de *Aplastodiscus eugenioi* de Itaguaí. Amplitude dos valores entre parênteses.

Parâmetro	Tipo	CV_{inter}(%)
Duração do canto (s)	Estático	6,4 (0,06–0,12)
Taxa de repetição (cantos/minuto)	Intermediário	14,2 (3-26)
Duração até o pico (s)	Dinâmico	54,3 (0,002–0,03)
Formato do Canto	Dinâmico	58,5 (0,02–0,30)
Frequência Fundamental (kHz)	Estático	3,4 (1,29–1,68)
Frequência Dominante (kHz)	Estático	1,9 (2,41–2,89)

4. Discussão

As mudanças periódicas do nível do mar, como aquelas que ocorreram no final do Pleistoceno, são consideradas como processo relativamente rápidos e que estão dentre aqueles capazes de impactar a evolução de organismos insulares (Jordan e Snell, 2008). A separação entre continente e ilhas isola grande parte das populações de flora e fauna. Trabalhos relacionados aos efeitos do isolamento geográfico de populações devido à elevação do nível do mar são relativamente abundantes. Montesinos *et al.* (2012), utilizando parâmetros morfométricos, detectou nanismo em populações de *Rhinella ornata* (Anura, Bufonidae) em duas (Ilha da Marambaia e Ilha Grande) das três ilhas estudadas no presente trabalho. Measey *et al.* (2007), com base em estudos de sequências de DNA mitocondrial, refutam a hipótese de que anfíbios endêmicos das ilhas do Golfo da Guiné tenham sido introduzidos antropogenicamente em favor de evidências de mecanismos de dispersão natural. Ohmer *et al.* (2008), detectam diferenças fenotípicas regionais em caracteres comportamentais (canto) e morfológicos (coloração e tamanho corporal), que não são corroborados pela história filogenética de *Dendropsophus ebraccatus* Cope, 1874.

Estudos da variação acústica entre populações insulares são menos frequentes. Na década de 60, Littlejohn (1964; 1965) investigou a variação geográfica nos cantos de anúncio de populações de anuros presentes no continente e em ilhas continentais do sul da Austrália, além de populações alopátricas (Littlejohn, 1968), também no território australiano. No estudo com *Crinia signifera* Girard, 1853, Littlejohn (1964) concluiu que existiam diferenças significativas entre a estrutura do canto da espécie comparando-se ilha e continente, além disso, tais diferenças acústicas não eram acompanhadas de diferenças na morfologia externa dos indivíduos. Em relação ao trabalho com *Litoria ewingii* (= *Hyla ewingi* Duméril e Bibron, 1841), Littlejohn (1965) encontrou distinção entre os cantos das populações insulares e

continentais, ainda que não em um grau considerado pelo mesmo como sendo suficiente para funcionar como uma barreira etológica eficiente de isolamento.

Apesar dos resultados de Littlejohn (1964; 1965), que estudou um sistema de ilhas com histórico de formação bastante semelhante investigado neste trabalho, os resultados aqui encontrados indicam a inexistência de variação entre os cantos nas diferentes ilhas, corroborando a hipótese nula; ou seja, que os cantos de anúncio de *A. eugenioi* não apresentaram evidências de que o isolamento geográfico em ilhas favoreceu o surgimento de divergências entre os parâmetros acústicos. Mesmo quando se testando os caracteres acústicos espectrais e temporais isoladamente, nenhuma diferença pode ser observada.

As Ilhas de Itacuruçá, Ilha Grande e a Ilha da Marambaia apresentam gradiente ecológico e diversidade de habitats, além de uma área relativamente ampla, características necessárias para manutenção de grandes populações (Lovette *et al.*, 2002; Gavrillets e Vose, 2005). Populações maiores, em uma fase recente após o isolamento entre ilhas e continente, impedem que ocorram eventos estocásticos de acúmulo de variação relacionados à populações de tamanho reduzido.

Outra explicação plausível para a falta de variabilidade entre as amostras de populações de ilhas diferentes refere-se à possibilidade de que, através de mecanismos naturais, as populações insulares e continentais de *Aplastodiscus eugenioi* pudessem estar trocando indivíduos. Essas trocas casuais, porém constantes, ajudariam a manter as populações mais homogêneas sob o ponto de vista genético, com consequências nos repertórios comportamentais. Montesinos *et al.* (2011) sugerem que isso possa ocorrer entre as populações continentais de *Rhinella ornata* e da Ilha de Itacuruçá. Outro exemplo é a hipótese levantada por Measey *et al.* (2007) para explicar como *Ptychadena newtoni* (Anura: Ranidae), uma espécie insular de São Tomé, no Golfo da Guiné, relaciona-se com espécies da costa leste do continente Africano. Segundo esses autores, um ancestral conseguiu chegar à

ilha, que dista 255 km da costa da África através de balsas naturais, arrastadas pelas águas dos rios Congo e Níger, que ainda contribuem para manter a água marinha do caminho menos salina, o que aumentaria as chances de sobrevivências dos dispersores. No caso das ilhas aqui estudadas, essa hipótese não parece plausível, uma vez que nem nas ilhas, nem no continente existem rios que pudessem fazer o transporte. Talvez aqui, testes de estrutura genética dessas populações pudessem ser conclusivos quanto a essa possibilidade.

Quando os resultados aqui apresentados são comparados com aqueles das espécies estudadas por Littlejohn (1964; 1965), *Crinia signifera* e *Litoria ewingii*, que apresentaram evidências de variação no canto de anúncio, outro ponto merece apreciação. As duas espécies australianas utilizam ambientes lânticos para reprodução (frogs.org.au). É esperado que anuros que se reproduzem em poça e com baixa capacidade de dispersão sejam mais suscetíveis à formação de populações isoladas (Green, 2003), o que pode aumentar as chances de fixar variações. As evidências de variação encontradas por Littlejohn (1964; 1965) levam à conclusão de que essa seja a condição das espécies investigadas.

Os coeficientes de variação de canto, dentro da população de *A. eugenioi* de Itaguaí, mostram que os dois fatores com menor variação são espectrais: frequência dominante e frequência fundamental, ambos estáticos. Os parâmetros com maior variação, portanto dinâmicos, são formato do canto e duração até o pico. Ambas são variáveis temporais. Os parâmetros acústicos espectrais estão submetidos a controle morfológico (tamanho corporal, por exemplo), enquanto os parâmetros temporais sofrem influência do ambiente (como temperatura) e do contexto social (Tárano, 2001). Embora parâmetros espectrais tendam a variar pouco e os temporais apresentarem maior variabilidade, ambos os parâmetros, estáticos e dinâmicos, são potenciais indicadores de aptidão reprodutiva do macho (Gerhardt, 1991). Fêmeas podem optar por machos maiores baseando sua escolha na frequência dominante, ou, por outro lado, escolher machos que produzam canto com maior gasto energético, através da

taxa de repetição do canto. Em ambos os casos os machos demonstram grande aptidão, o que seria transmitido à prole (Gerhardt, 1991). Não existem regras para esta escolha.

Embora Hoskin *et al.* (2005) tenham documentado a evolução da seleção sexual em *Litoria genimaculata* em menos de 8000 anos de isolamento, no caso de *Aplastodiscus eugenioi*, os resultados parecem indicar que a seleção sexual exercida pelas fêmeas esteja atuando em caracteres pouco variáveis do canto. Ainda que a falta de variação geográfica nos cantos não implique que a escolha seja feita com base em caracteres pouco variáveis do canto, esta opção da fêmea (caso esteja ocorrendo) seria responsável pela estabilização da evolução do canto da espécie. Também não se deve descartar a possibilidade de que simplesmente o tempo de isolamento ainda não é o suficiente para que variações no canto sejam detectáveis pelas análises acústicas. Littlejohn (1964; 1965) demonstrou a eficácia dos cantos de anúncio como objetos de estudo da evolução de espécies em ilhas continentais. Porém, no presente estudo, somente a bioacústica não é suficiente para conclusões definitivas. Considero que a combinação de ferramentas seja o ideal nas investigações buscando evidências de processos evolutivos, assim como fizeram Ohmer *et al.* 2008 com *Dendropsophus ebraccatus*. Desta forma, com intuito de determinar a existência de variações nos parâmetros acústicos de *A. eugenioi* devido ao isolamento geográfico de populações em ilhas costeiras, sugiro que novos estudos complementares sejam feitos com estas mesmas populações utilizando-se morfometria e/ou morfologia, além de marcadores moleculares como ferramentas, uma vez que estes últimos são mais eficazes em detectar variações mais sutis nos organismos do que qualquer outra ferramenta de investigação utilizada atualmente.

5. Referências Bibliográficas

Amphibian Research Centre. Electronic Database (12 de Abril, 2013) accessible at:
frogs.org.au.

- Barton, N. H., Mallet, J. (1996): Natural selection and random genetic drift as causes of evolution on islands [and discussion]. *Philos. Trans. R. Soc., B*, **351(1341)**: 785-795.
- Bell, R. C., Brasileiro, C. A., Haddad, C. F., Zamudio, K. R. (2012): Evolutionary history of *Scinax* treefrogs on land-bridge islands in south-eastern Brazil. *J. Biogeogr.*, **39(9)**: 1733-1742.
- Bernal, X. E., Guarnizo, C., & Lüddecke, H. (2005). Geographic variation in advertisement call and genetic structure of *Colostethus palmatus* (Anura, Dendrobatidae) from the Colombian Andes. *Herpetologica*, **61(4)**: 395-408.
- Bioacoustics Research Program. (2011). Raven Pro: Interactive Sound Analysis Software (Version 1.4) [Computer software]. Ithaca, NY: The Cornell Lab of Ornithology.
- Blair, W. F., Littlejohn, M. J. (1960): Stage of speciation of two allopatric populations of chorus frogs (*Pseudacris*). *Evolution*, **14**: 82-87.
- Blaustein, A. R., Wake, D. B., Sousa, W. P. (1994): Amphibian declines: judging stability, persistence, and susceptibility of populations to local and global extinctions. *Conserv. Biol.*, **8(1)**: 60-71.
- Bittencourt-Silva, G. B., da Siva, H. R. (2013): Insular Anurans (Amphibia: Anura) of the coast of Rio de Janeiro, Southeast, Brazil. *Check List*, **9(2)**: 225-234.
- Carnaval, A. C., Bates, J. M. (2007): Amphibian DNA shows marked genetic structure and tracks Pleistocene climate change in northeastern Brazil. *Evolution*, **61(12)**: 2942-2957.
- Carvalho-e-Silva, A.M.P.T., Carvalho-e-Silva S.P. (2005): New Species of the *Hyla albofrenata* Group, from the States of Rio de Janeiro and São Paulo, Brazil (Anura, Hylidae) *J. Herpetol.*, Columbus, **39** (1): 73-81.
- Clarke K.R. (1993): Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *J. Ecol.* **18(1)**:117-143.

- Clarke K.R., Warwick R.M. (1994): Change in Marine Communities: an approach to statistical analysis and interpretation. Publ. - Nat. Environ. Res. Counc., Ser. D (U. K.), United Kingdom.
- Clegg, S.M., Degnan, S.M., Moritz, C., Estoup, A., Kikkawa, J., Owens, I.P. (2002): Microevolution in island forms: the roles of drift and directional selection in morphological divergence of a passerine bird. *Evolution*, **56**: 2090–2099.
- Darwin, C. (1859): On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life. Jogn Murray, London.
- Duryea, M.C., Brasileiro, C.A. Zamudio, K.R. (2009): Characterization of microsatellite markers for snouted treefrogs in the *Scinax perpusillus* species group (Anura, Hylidae). *Conserv. Genet.*, **10**: 1053–1056.
- Fitzpatrick, S.W., Brasileiro, C.A., Haddad, C.F.B. Zamudio, K.R. (2009): Geographical variation in genetic structure of an Atlantic Coastal Forest frog reveals regional differences in habitat stability. *Molec. Ecol.*, **18**: 2877–2896.
- Frankham, R. (1997): Do island populations have less genetic variation than mainland populations? *Heredity*, **78**: 311–327.
- Frost, D.R. (2011): Amphibian Species of the World. Version 5.5. (03 de Abril, 2013). Electronic Database accessible at: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/> American Museum of Natural History, New York, USA.
- Gavrilets, S. Vose, A. (2005): Dynamic patterns of adaptive radiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **50**: 18040–18045.
- Gerhardt, H. C. (1991). Female mate choice in treefrogs: static and dynamic acoustic criteria. *Anim. Behav.*, **42(4)**: 615-635.
- Gerhardt, H.C. (1994): The evolution of vocalization in frogs and toads. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* **25**: 293-324.

- Gerhardt, H.C. (1998): Acoustic signals of animals: recording, field measurements, analysis and description. *In*: p.1-57, Hopp, S.L., Owren, M.J.; Evans, C.S. (Eds.) Animal Acoustic Communication: Sound Analysis and Research Methods. New York: Springer-Verlag.
- Gerhardt, H.C., Huber, F. (2002): Acoustic Communication in Insects and Anurans: common problems and diverse solutions. Chicago e Londres: University of Chicago Press; 531p.
- Grazziotin, F. G., Monzel, M., Echeverrigaray, S., Bonatto, S. L. (2006): Phylogeography of the *Bothrops jararaca* complex (Serpentes: Viperidae): past fragmentation and island colonization in the Brazilian Atlantic Forest. *Molec. Ecol.*, **15(13)**: 3969-3982.
- Green, D. M. (2003): The ecology of extinction: population fluctuation and decline in amphibians. *Biolo. Cons.*, **111(3)**: 331-343.
- Gridi-Papp, M (ed.). 2003 - 2007. SoundRuler: Acoustic Analysis for Research and Teaching.
- Hartmann, M.T.; Hartmann, P.A., Haddad, C.F.B. (2004): Visual signaling and reproductive biology in a nocturnal treefrog, genus *Hyla* (Anura: Hylidae). *Amphibia-Reptilia*, **25**: 395-406.
- Hasegawa, M., Sugiura, S., Ito, M. T., Yamaki, A., Hamaguchi, K., Kishimoto, T., Okochi, I. (2009): Community structures of soil animals and survival of land snails on an island of the Ogasawara Archipelago. *Pesqui. Agropecu. Bras.*, **44(8)**: 896-903.
- Heyer, R.W., García-Lopez, J.M.; Cardoso, A.J. (1996). Advertisement call variation in the *Leptodactylus mystaceus* species complex (Amphibia: Leptodactylidae) with a description of a new sibling species. *Amphibia-Reptilia*, **v. 17**, n. 1, p. 7-31.
- Hewitt, G. (2000). The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, **405**: 907 – 913.
- Hoskin, C. J., Higgie, M., McDonald, K. R., Moritz, C. (2005): Reinforcement drives rapid allopatric speciation. *Nature*, **437**: 1353-1356.

- Howald, G., Donlan, C., Galván, J. P., Russell, J. C., Parkes, J., Samaniego, A., Wang Y., Veitch D., Genovesi P., Pascal M., Saunders A., Tershy, B. (2007): Invasive rodent eradication on islands. *Conserv. Biol.*, **21(5)**: 1258-1268.
- Howard, R. D., Young, J. R. (1998): Individual variation in male vocal traits and female mating preferences in *Bufo americanus*. *Anim. Behav.*, **55(5)**: 1165-1179.
- Jaenike, J.R. (1973): A steady-state model of genetic polymorphisms on islands. *Amer. Natur.*, **107**: 793–795.
- Jang, Y., Hahm, E. H., Lee, H. J., Park, S., Won, Y. J., Choe, J. C. (2011): Geographic variation in advertisement calls in a tree frog species: gene flow and selection hypotheses. *PloS One*, **6(8)**: e23297.
- Jordan, M.A., Snell, H.L. (2008): Historical fragmentation of islands and genetic drift in populations of Galápagos lava lizards (*Microlophus albemarlensis* complex). *Mol. Ecol.*, **17(5)**:1224-37.
- Kirkpatrick, M., Ryan, M. J. (1991): The evolution of mating preferences and the paradox of the lek. *Nature*, 350(6313), 33-38.
- Littlejohn, M. J. (1964): Geographic isolation and mating call differentiation in *Crinia signifera*. *Evolution*, **18(2)**: 262-266.
- Littlejohn, M. J. (1965): Premating isolation in the *Hyla ewingi* complex (Anura: Hylidae). *Evolution*, **19**: 234-243.
- Littlejohn, M. J., Loftus-Hills, J. J. (1968): An experimental evaluation of premating isolation in the *Hyla ewingi* complex (Anura: Hylidae). *Evolution*, **22**: 659-663.
- Lovette, I.J., Bermingham, E. Ricklefs, R.E. (2002): Cladespecific morphological diversification and adaptive radiation in Hawaiian songbirds. *Proc. R. Soc. B*, **269**: 37–42.

- MacArthur, R. H., Wilson, E. O. (1967): The theory of island biogeography. Monographs in Population Biology (vol. 1). Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Measey G. J., Vences, M., Drewes, R. C., Chiari, Y., Melo, M., Bourles, B. (2007): Freshwater paths across the ocean: molecular phylogeny of the frog *Ptychadena newtoni* gives insights into amphibian colonization of oceanic islands. J. Biogeogr., **34(1)**, 7-20.
- Montesinos, R., Silva, H. R., Carvalho, A. L. G. (2012): The 'Island Rule' Acting on Anuran Populations (Bufonidae: *Rhinella ornata*) of the Southern Hemisphere. Biotropica, **44(4)**: 506-511.
- Nogales, M., Martín, A., Tershy, B. R., Donlan, C., Veitch, D., Puerta, N., Wood, B. Alonso, J. (2004): A review of feral cat eradication on islands. Conserv. Biol., **18(2)**: 310-319.
- Nunn, P.D. (1994): Oceanic Islands. Blackwell, Oxford; 418p.
- Ohmer, M. E., Robertson, J. M., Zamudio, K. R. (2009): Discordance in body size, colour pattern, and advertisement call across genetically distinct populations in a Neotropical anuran (*Dendropsophus ebraccatus*). Biol. J. Linn. Soc., **97(2)**: 298-313.
- Orrico, V.G.D., Carvalho-e-Silva, A.M., Carvalho-e-Silva, S.P. (2006): Redescription of the advertisement call of *Aplastodiscus arildae* (Cruz & Peixoto) and description of the call of *Aplastodiscus weygoldti* (Cruz & Peixoto) with general notes about the genus in Southeastern Brazil (Anura, Hylidae). Rev. Bras. Zool., v. **23**, n.4, p. 994-1001.
- Padial, J. M., Köhler, J., Munoz, A., De La Riva, I. (2008): Assessing the taxonomic status of tropical frogs through bioacoustics: geographical variation in the advertisement calls in the *Eleutherodactylus discoidalis* species group (Anura). J. Linn. Soc. London, Zool., **152(2)**: 353-365.
- Péres Jr., A. K. (2003): Sistemática e conservação de lagartos do Gênero *Tupinambis*

- (Squamata, Teiidae). Tese de Doutorado, 192 p., Universidade de Brasília, Brasília, DF, Brasil. (não publicado).
- Pröhl, H., Koshy, R. A., Mueller, U., Rand, A. S., Ryan, M. J. (2006): Geographic variation of genetic and behavioral traits in northern and southern túngara frogs. *Evolution*, **60(8)**: 1669-1679.
- Ryan, M. J., Wilczynski, W. (1991): Evolution of intraspecific variation in the advertisement call of a cricket frog (*Acris crepitans*, Hylidae). *Biol. J. Linn. Soc.*, **44(3)**: 249-271.
- Ryan, M. J., Rand, A. S., Weigt, L. A. (1996): Allozyme and advertisement call variation in the túngara frog, *Physalaemus pustulosus*. *Evolution*, **50(6)**: 2435-2453.
- Salles, R.O.L., Pontes, R.C., Silva-Soares, T. (2012): New records and geographic distribution of *Aplastodiscus eugenioi* (Anura: Hylidae) in southeastern Brazil. *Herpetology Notes*, **5**: 431-433.
- Silva, H. R., Carvalho, A. L. G., Bittencourt-Silva, G. B. (2008): Frogs of Marambaia: a naturally isolated Restinga and Atlantic Forest remnant of southeastern Brazil. *Biota Neotrop.*, **8(4)**, 0-0.
- Sinsch, U., Schneider, H. (1996): Bioacoustic assessment of the taxonomic status of pool frog populations (*Rana lessonae*) with reference to a topotypical population. *J. Zoo. Syst. Evol. Research*, **34(2)**: 63-73.
- Suguio, K., Martin, L., Flexor, J. M. (1988): Quaternary sea levels of the Brazilian coast: recent progress. *Episodes*, **11(3)**: 203-208.
- Tárano, Z. (2001): Variation in male advertisement calls in the Neotropical frog *Physalaemus enesefae*. *Copeia*, **4**: 1064-1072.

Velland, M. (2003): Island biogeography of genes and species. *Amer. Natur.*, **162**: 358–365.

Velo-Antón, G., K. R. Zamudio, A. Cordero-Rivera (2011): Genetic drift and rapid evolution of viviparity in insular fire salamanders (*Salamandra salamandra*). *Heredity*, **108.4**: 410-418.

Wilczynski, W., Ryan, M. J. (1999): *In*: p.234-241, Foster A., Endler J. (Eds.). Geographic variation in animal communication systems. Geographic variation in behavior; perspectives on evolutionary mechanisms. Oxford: Oxford University.

3. Conclusões e Considerações Finais

1. *Aplastodiscus eugenioi* e *A. albofrenatus* apresentam uma grande sobreposição nos parâmetros acústicos do canto de anúncio.
2. A população de *A. eugenioi* de Guapimirim foi a que mais se distinguiu das outras três populações.
3. As comparações dos cantos de *A. eugenioi* e *A. albofrenatus* não apresentaram qualquer divergência acústica consistente nos parâmetros espectrais.
4. A representação gráfica do MDS não apresenta qualquer padrão de distribuição que possibilite a separação segura entre os indivíduos de ilha e continente, com base em caracteres acústicos.
5. De acordo com o coeficiente de variação interindividual, frequência dominante, frequência fundamental e duração do canto, foram classificadas como parâmetros estáticos. A taxa de repetição do canto apresentou variação intermediária, enquanto formato do canto e duração até o pico foram considerados dinâmicos.
6. Os cantos de anúncio de *A. eugenioi* não apresentaram evidências de que o isolamento geográfico em ilhas favoreceu o surgimento de divergências entre os parâmetros acústicos.
7. A possibilidade de que simplesmente o tempo de isolamento ainda não é o suficiente para que variações no canto sejam detectáveis pelas análises acústicas deve ser considerada.
8. Um maior conhecimento sobre *Aplastodiscus eugenioi* possibilitaria medidas eficazes para conservação da espécie. *A. eugenioi* possui reprodução contínua ao longo de todo ano e depende de riachos para que isto ocorra. Apesar de ser uma espécie encontrada em ambientes onde existe a presença humana, os riachos precisam apresentar uma qualidade mínima para possibilitar todo o ritual de acasalamento deste anuro. No

vilarejo da Gamboa, na Ilha de Itacuruçá, a ação antrópica depauperou o ambiente e a retirada de areia dos riachos (possivelmente para uso na construção de novas casas) prejudica a reprodução de *A. eugenioi*. Esta ação humana já se reflete na diminuição do número de indivíduos amostrados ao comparar-se com amostragens feitas em anos anteriores na mesma localidade.