

Universidade de Brasília
Instituto de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Zoologia

Sinais Acústicos e Visuais em *Pithecopus azureus* (Amphibia, Phyllomedusidae).

Guilherme Fajardo Roldão Álvares

ORIENTADORA: Dra. REGINA HELENA FERRAZ MACEDO

Brasília, DF
10 de agosto de 2017

“Enquanto a maioria dos trabalhos (...) focam a tricomacia dos primatas, espero que esse trabalho mostre o valor de se olhar além dos nosso próprios idiossincráticos conjuntos de cones.”

Osorio e Vorobyew, 2008

AGRADECIMENTOS

Sou muito grato a todas as pessoas que me incentivaram a levar adiante a ideia de um projeto que, à primeira vista, parecia lunático e improvável. Minha mulher, Marina Praia Fiuza Dias Pinto e meu filho, João Praia Dias Fajardo Álvares, meus pais José Frederico Álvares e Maria Beatriz Roldão e Álvares, que acreditam e apoiam minhas decisões e escolhas de vida, e estiveram presentes nos melhores e nos momentos mais difíceis desta jornada de grandes imprevistos e tamanhas adversidades. Minha sinceras desculpas pelos momentos ausentes.

À minha amiga Paula Sicsú, que me mostrou o Laboratório de Comportamento Animal da Universidade de Brasília e aos grandes amigos e colegas de Laboratório que tive o prazer de conviver durante esse importante ciclo da minha vida: Pedro de Moraes, Pedro Diniz, Milene Gaiotti e Leonardo Castilho que, de alguma forma, me ajudaram no desenvolvimento da tese, desde simples conselhos, até a escolha das melhores análises estatísticas a serem empregadas.

Agradeço aos amigos do Laboratório de Fauna e Unidades de Conservação da Unb, Glendo Henrique de Castro Oliveira, Paulla Jezuino de Carvalho e Samara Maciel, com as imprescindíveis companhias no campo e demais ajudas para que esse projeto fosse realizado.

Por último, gostaria de agradecer à minha orientadora Dra. Regina H. Macedo, que durante quatro anos foi uma grande amiga e parceira. Certamente o meu maior exemplo de pesquisadora e pessoa. Obrigado pela paciência e confiança.

RESUMO

A seleção sexual surgiu para explicar a origem de certas características sexuais secundárias encontradas em machos de muitas espécies. Essas características são facilmente observadas na coloração exuberante presente em penas de aves, nos elaborados comportamentos visuais de corte encontrados em diversos grupos taxonômicos e nos surpreendentes repertórios vocais emitidos por aves, mamíferos, peixes e anfíbios. A vocalização é o comportamento mais conspícuo dos anfíbios anuros e, por ser uma característica espécie-específica, tem sido frequentemente utilizada para responder perguntas referentes à filogenia e taxonomia das espécies e também para propor hipóteses relacionadas à seleção sexual e seus mecanismos de atuação. A vocalização atua em contextos intrasexuais, como na defesa de territórios e encontros agonísticos, e intersexuais, na atração e escolha por fêmeas. Devido ao fato da maioria dos anfíbios anuros possuir hábitos noturnos, a comunicação acústica é possivelmente a principal forma de comunicação intraespecífica, enquanto a comunicação visual atua principalmente em contextos interespecíficos. Entretanto, a comunicação visual, referente à complexidade de cores e comportamentos elaborados, pode ser encontrada com muito mais frequência em espécies de hábitos diurnos e associadas aos ambientes lóticos, com muita disponibilidade de luz e bastante ruído sonoro. Contudo, nos últimos anos, estudos têm abordado questões referentes à visão noturna em anuros e têm cada vez mais demonstrado que os sinais visuais são frequentes em espécies de hábitos noturnos e que estes sinais são utilizados para aumentar a conspicuidade e reconhecimento entre indivíduos da mesma espécie e, de forma bimodal, na modulação da atratividade do sinal acústico. Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo principal investigar o uso, em contextos de comunicação social, da coloração conspícua presente nos flancos de *Pithecopus azureus*, uma espécie de anfíbio neotropical de hábito noturno. Para isso, no primeiro capítulo, descrevo em detalhes, a variação da cor e padrões de coloração conspícua nos flancos, e testo a existência de dimorfismo sexual na espécie. No segundo capítulo, investigo se os sinais visuais e acústicos são importantes variáveis na preferência das fêmeas e testo a hipótese de que as variáveis acústicas e visuais sinalizam condição corporal dos machos e, por fim, possíveis demandas conflitantes entre o sinal acústico e visual. Finalmente, no terceiro capítulo, avalio se os sinais acústicos e visuais atuam em contexto intrasexual, mais

especificamente na territorialidade e dominância de recursos sexuais em duas populações de *P. azureus*.

Palavras chave: Seleção sexual, sinal visual, aposematismo, sinal acústico, vocalização, demandas conflitantes, sinais bimodais, visão noturna, preferência de fêmeas, territorialidade.

SUMÁRIO

Capítulo 1 – Dicromatismo Sexual e a Variação de Cor e Padrão de Coloração em <i>Pithecopus azureus</i> (Anura: Phyllomedusidae)	1
RESUMO	1
ABSTRACT	2
INTRODUÇÃO	3
MATERIAIS E MÉTODOS	6
Espécie de Estudo	6
Área de Estudo	8
Amostragem e Coleta de Dados	9
Análise dos Dados	9
Procedimentos Estatísticos	10
RESULTADOS	10
Reflectância Espectrométrica de <i>Pithecopus azureus</i>	10
Dicromatismo Sexual em <i>Pithecopus azureus</i>	13
DISCUSSÃO	17
CONCLUSÃO	19
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	19
Capítulo 2 – Comportamento Acústico e Visual em <i>Pithecopus azureus</i> (Anura: Phyllomedusidae): Qualidades Acústicas e Visuais de Machos Pareados e Não-pareados	26
RESUMO	26
ABSTRACT	27
INTRODUÇÃO	28
MATERIAL E MÉTODOS	31
Espécie de Estudo e Comportamento	31
Área de Estudo	33
Amostragem	33
Análise de Dados	35
Procedimentos Estatísticos	35
RESULTADOS	37
Sinal Visual	38
Sinal Acústico	41
Demandas Conflitantes no Sinal Acústico e Visual em <i>Pithecopus azureus</i>	45
DISCUSSÃO	46
CONCLUSÃO	50
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52

CAPÍTULO 3 –Cor, Forma e Canto Ajudam no Estabelecimento de Territórios em Machos de <i>Pithecopus azureus</i>?	61
RESUMO	61
ABSTRACT	62
INTRODUÇÃO	63
MATERIAL E MÉTODOS	67
Área de Estudo	67
Amostragem	67
Análise de Dados	69
Procedimentos Estatísticos	70
RESULTADOS	71
Diferenças entre Machos Residentes e Flutuantes no Padrão de Manchas no Flanco	72
Diferenças entre Machos Residentes e Flutuantes na Reflectância Espectral . 73	
Diferenças entre Machos Residentes e Flutuantes no Canto de Anúncio	74
DISCUSSÃO	78
CONCLUSÃO	81
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	82

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1.

Tabela 1. Estatística descritiva das medidas de reflectância de *Pithecopus azureus* e valores gerados pela análise de variância (ANOVA).....15

Tabela 2. Estatística descritiva das áreas do padrão de coloração no flanco de *Pithecopus azureus* e valores gerados pela análise de variância (ANOVA).....15

Capítulo 2.

Tabela 1. Estatística descritiva dos sinais acústicos e visuais em machos de *Pithecopus azureus* (pareados e não-pareados) e valores da Regressão Logística Ordinal e Regressão Linear dos Componentes Principais de ACP.....44

Tabela 2. Valores dos componentes principais das variáveis de padrão de manchas no flanco.....38

Tabela 3. Valores dos componentes principais das variáveis de reflectância espectral do dorso e flanco.....39

Tabela 4. Análise de componentes principais das variáveis do canto de anúncio.....42

Tabela 5. Valores da PCA de reflectância espectrofotométrica para indivíduos machos com vocalizações gravadas (N=16).....46

Capítulo 3.

Tabela 1. Análise de componentes principais das variáveis de padrão de manchas no flanco e a variação explicada pelos dois primeiros componentes.....72

Tabela 2. Análise de componentes principais das variáveis de reflectância espectral....73

Tabela 3. Análise de componentes principais das variáveis acústicas do canto de anúncio.....75

Tabela 4. Estatística descritiva dos sinais acústicos e visuais em machos de *P. azureus* territoriais e visitantes e valores dos modelos lineares generalizados, dos componentes principais, localidade, comprimento rostro-uróstilo e índice de massa corporal.....77

LISTA DE FIGURA

Capítulo 1.

- Figura 1. Coloração e padrão de manchas no flanco, coxas e tíbias em *Pithecopus azureus*.....8
- Figura 2. Média do espectro de reflectância da coloração da área do dorso (A) e do flanco (B) de *Pithecopus azureus*. A linha representa a média e, a área em cinza, o desvio padrão.....12
- Figura 3. Padrões de barras pretas observadas no flanco de *Pithecopus azureus*. Da direita para esquerda: padrão de barras longitudinais, padrão de barras transversais e padrão misto.....13
- Figura 4. Espectro de reflectância de machos e fêmeas de *Pithecopus azureus*. Linha representa a média e área em cinza o desvio padrão. (A) área do dorso e (B) área do flanco.....14
- Figura 5. Padrão de coloração de machos (coluna da esquerda) e fêmeas (coluna da direita).....16

Capítulo 2.

- Figura 1. Sonograma do canto de anúncio de *Pithecopus azureus*. (A) oscilograma da nota, (B) oscilograma do canto de anúncio, (C) espectrograma e (D) espectro de potência.....37
- Figura 2. Diferença entre machos pareados e não-pareados no Componente Principal 4, resultado da PCA das variáveis de reflectância.....40
- Figura 3. Diferença entre machos pareados e não-pareados no Componente Principal 2, resultado da PCA das variáveis de reflectância.....41
- Figura 4. Diferença entre machos pareados e não-pareados no Componente Principal 3, resultado da PCA das variáveis acústicas.....43
- Figura 5. Relação entre índice massa corporal (SMI) e o componente principal 1, resultado da PCA das variáveis dos sinais acústicos.....43
- Figura 6. Relação entre a duração do canto de *Pithecopus azureus* e o componente principal 3, resultado da PCA das variáveis de reflectância.....45

Capítulo 3.

- Figura 1. Frequência de cópulas de acordo com as categorias de territorialidade em *Pithecopus azureus*.....72
- Figura 2. Gráfico de barras mostrando as diferenças entre as categorias de territorialidade nas variáveis de comprimento focinho-uróstilo (CRU) e índice de massa

corporal (SMI).....	76
------------------------	----

Capítulo 1 – Dicromatismo Sexual e a Variação de Cor e Padrão de Coloração em *Pithecopus azureus* (Anura: Phyllomedusidae).

RESUMO

A teoria de seleção sexual surgiu para explicar as características sexuais secundárias dimórficas encontradas em muitos grupos animais. O dicromatismo sexual é uma forma de dimorfismo sexual, onde machos e fêmeas diferem em cor, ou em padrões de manchas no corpo. O dicromatismo sexual em anfíbios ocorre em pouco mais de 6% das espécies conhecidas, um valor que pode estar subestimado e ocorrer em diferentes grupos e com muito mais frequência do que se conhece. *Pithecopus azureus* é um anuro neotropical pertencente à Família Phyllomedusidae, conhecido por possuir cores vistosas como coloração dorsal verde e flancos conspícuos com coloração vermelho-alaranjado geralmente atribuído a aposematismo. No presente estudo descrevo a variação existente no espectro de reflectância do dorso e flanco, no padrão de manchas conspícuas no flanco e testo a hipótese de dicromatismo sexual na espécie. Os resultados mostram a reflectância do espectro não visível do ultravioleta e a existência de dicromatismo sexual no padrão de manchas dos flancos. Discuto as possíveis funções da coloração e o papel da seleção sexual na manutenção da variação do sinal e do dicromatismo sexual na espécie.

Palavras chave: Seleção sexual, sinal visual, Phyllomedusidae, cor, padrão de manchas, aposematismo, ultravioleta, infravermelho e comunicação.

ABSTRACT

The theory of sexual selection originated to explain secondary sexual characteristics found in many animal taxa. Sexual dichromatism is a type of sexual dimorphism in which males and females differ in colors, or color patterns. In anurans, sexual dichromatism seems to occur in less than 6% of all known species; however, this number may be greatly underestimated and dichromatism could occur in many different species groups. *Pithecopus azureus* is a neotropical tree frog that belongs to the Family Phyllomedusidae, known for its bright green dorsal coloration, conspicuous reddish coloration on the flanks, both attributed to aposematism. In the present study, I describe in detail the variation of spectral color reflectance of flanks and back using a spectrophotometer and also describe color pattern variation on the flanks. I also test the hypothesis of sexual dichromatism in *P. azureus*. Results show reflectance of the non-visible spectrum of ultraviolet on the back and the first record of sexual dichromatism in the Family Phyllomedusidae. I discuss the possible functions of color in the species and suggest that sexual selection could be the main selective pressure responsible for the maintenance of signal variation and sexual dichromatism in the species.

Keywords: Sexual selection, visual signal, sexual dichromatism, Phyllomedusidae, color, color pattern, ultraviolet, infrared, communication.

INTRODUÇÃO

O mundo animal é repleto de cores vibrantes que são, na maioria das vezes, utilizadas para produção de sinais visuais que atuam na comunicação intra- e interespecífica (ALLEN, 1879; BRADBURY e VEHRENCAMP, 1998). Esses sinais visuais permitem que animais não só encontrem melhores parceiros reprodutivos (HOUDE, 1987; ANDERSON, 1994) mas também auxiliam na detecção de presas (BUCHANAN, 1994), no forrageamento (SCHMIDT et al., 1994) e na fuga de predadores (SAPORITO et al., 2007; PALUH et al., 2014). Mas, para que um sinal visual seja transmitido de forma eficaz, é necessário que os padrões de coloração sejam conspicuos e contrastantes contra o plano de fundo, criando um mosaico de manchas que podem variar tanto no tamanho, quanto na forma, brilho e cor (ENDLER, 1990).

Dentre os vertebrados que apresentam cores vibrantes na natureza, a Classe Anfíbia agrupa espécies que exibem padrões de coloração exuberantes, associados a diferentes tipos de comportamentos visuais elaborados (TOLEDO e HADDAD, 2009; ROJAS, 2016). A origem e a manutenção dessa diversidade de cores e comportamentos são atribuídas às pressões de seleção natural, atuando principalmente como estratégias de defesa, classificadas em diferentes categorias e subcategorias (TOLEDO e HADDAD, 2009): (a) mimetismo críptico, quando ocorrem cores e padrões de coloração com características semelhantes ao ambiente ou plano de fundo, frequentemente encontrado em espécies da família Hylidae que se assemelham a rochas, líquens ou substrato (e.g.: *Bokermannohyla alvarengai*); (b) coloração disruptiva quando ocorre na forma de grandes ocelos inguiniais de coloração negra e encontrada em algumas espécies da Família Leptodactylidae (e.g.: *Eupemphix nattereri*); e (c) aposematismo associado à impalatabilidade, na forma de cores conspicuas, vistosas (vermelho, amarelo, azul e negro) e bastante contrastantes contra o plano de fundo, como encontrado na maioria das espécies pertencentes à Família Dendrobatidae e Mantellidae (e.g.: *Dendrobates tinctorius*, *Mantella expectata*)

Essa grande diversidade de cores encontradas nos anfíbios está, principalmente, associada à disposição e tipos de cromatóforos, células especializadas em sintetizar e armazenar pigmentos, no tegumento (derme e epiderme) e classificados conforme a cor gerada pelo pigmento (BAGNARA et al., 1968; DUELMAN e TRUEB, 2004). O melanóforo está presente principalmente na epiderme de larvas e, em abundância na

camada mais basal da unidade cromatófora tegumentar (UCT), situada na derme dos adultos, e responsável pela produção de melanina, pigmento que expressa as cores marrom e preto. A camada intermediária da UCT funciona de forma refletora e é composta por iridóforos, células de aparência branca e metálica, que refletem luz em comprimento de onda específico devido à estruturação paralela das organelas contendo pigmentos de purinas, guaninas, adeninas e hipoxantinas (BAGNARA et al., 1968). Por fim, a camada mais superior da derme dos anfíbios é composta por dois tipos de cromatóforos, responsáveis pelas colorações amarelo, vermelho e laranja que incluem: xantóforos, quando a coloração está associada a pigmentos formados por grânulos de pteridinas; e eritróforos quando a coloração está associada a pigmentos de carotenoide (BAGNARA et al., 1968; DUELLMAN e TRUEB, 1994; HOFFMAN e BLOUIN, 2000).

A coloração esverdeada encontrada no dorso de muitos anfíbios anuros é atribuída à luz refletida pelos iridóforos, que resultam em coloração estrutural azul-claro e filtrada pelos pigmentos de cor amarela, os xantóforos (BAGNARA et al., 1968). Já a coloração azul, encontrada em algumas espécies de anuros da Família Dendrobatidae, é o resultado da mesma reflexão e dispersão do azul estrutural dos iridóforos, mas na ausência da camada superior de xantóforos e eritróforos (DUELLMAN e TRUEB, 1994; HOFFMAN e BLOUIN, 2000). A interação das camadas da UCT pode causar mudanças temporárias e bruscas na coloração dos anfíbios (BAGNARA, 1976). Essas mudanças bruscas, atribuídas à fisiologia do organismo, geralmente ocorrem sob estímulos de luminosidade que liberam hormônios que, por sua vez, irão modificar a estruturação e forma das organelas dos iridóforos e a quantidade de melanina nas projeções dos melanóforos que encobrem os iridóforos. Por outro lado, as mudanças que ocorrem em longos períodos de tempo (dias ou meses) são atribuídas às mudanças morfológicas e são lentas, pois envolvem a síntese e destruição de grandes quantidades de pigmentos (BAGNARA, 1976; DUELLMAN e TRUEB, 1994; HOFFMAN e BLOUIN, 2000).

Um dos mais intrigantes e singulares pigmentos encontrados no reino animal ocorre em dois grupos de anfíbios pertencentes às Famílias Pelodyadidae e Phyllomedusidae, evidenciando a relação de parentesco entre eles e um ancestral comum do período de Gondwana (BAGNARA, 2003; DUELMANN et al., 2016). As Famílias Phyllomedusidae, com distribuição na América Central e América do Sul, e

Pelodryadidae, com distribuição na Austrália e Papua-Nova Guiné, possuem um pigmento único, de coloração vermelho-vinho, conhecido como pterorodina (*pterorhodin*) encontrado em um tipo de organela, o melanossomo, nas células do tipo melanóforo (BAGNARA et al., 1973). A função e origem desse pigmento é um mistério, embora existam sugestões de que o pigmento possa, de alguma maneira, servir como refletor de luz infravermelho e atuar como forma de mimetismo do espectro não-visível de cor, possibilitando que o animal se torne críptico nas folhagens que refletem o mesmo espectro do infravermelho, defendendo-se de predadores que conseguem detectar esse comprimento de onda (e.g., algumas espécies de serpentes) (SCHWALM et al., 1977; EMERSON et al., 1990; BAGNARA, 2003; TOLEDO e HADDAD, 2009).

Estudos com a utilização de cores e padrões de coloração na comunicação visual em anfíbios anuros são focados principalmente em espécies de hábitos diurnos (HÖDL e AMÉZQUITA, 2001), pois acredita-se que a evolução dos sinais visuais na natureza tenha acontecido em condições ambientais com bastante luminosidade (ENDLER, 1992). Estes estudos foram realizados utilizando, principalmente, espécies da Família Dendrobatidae, caracterizadas por possuírem cores conspícuas, exuberantes e bastante contrastantes com o plano de fundo (LÖTTERS et al., 2007). Estes anfíbios anuros são conhecidos mundialmente por possuir os mais tóxicos alcalóides encontrados na natureza (DALY et al., 1987). Devido à forte correlação filogenética entre a toxicidade e a variação de cores encontradas entre as espécies, a coloração exuberante em dendrobatídeos evidencia sua função principal na advertência da impalatabilidade aos predadores, sugerindo o aposematismo como a principal força evolutiva na origem e manutenção dessa característica (SUMMERS e CLOUGH, 2001).

Para que um sinal visual de impalatabilidade seja transmitido de forma eficaz é preciso que apresente padrões simples e uniformes, sem grandes variações, para tornar fáceis e rápidos a aprendizagem e o reconhecimento por parte dos predadores (ENDLER e MAPPES, 2004). Entretanto, algumas espécies possuem intrigantes e exuberantes polimorfismos, tanto na cor, quanto no padrão de coloração aposemática (SUMMERS et al., 2003; LÖTTERS et al., 2007), sugerindo que variações no sinal aposemático possam ter outras funções e, portanto, responder a outras pressões seletivas.

Somente nos últimos dez anos, estudos têm demonstrado que o sinal aposemático na Família Dendrobatidae pode atuar em contextos intraespecíficos,

influenciando mudança do comportamento entre machos conspecíficos (DE LUNA et al., 2010; CROTHERS et al., 2011) e a preferência de fêmeas por machos com certas características de cores (SUMMERS et al., 1999; SIDDIQI et al., 2004; MAAN e CUMMINGS, 2008). Estes resultados mostram que, não somente as forças de seleção natural, mas também as de seleção sexual, são responsáveis pela variação no padrão de coloração em algumas espécies aposemáticas. Portanto, diferentes componentes da seleção sexual, como competição intra-sexual e preferência de fêmeas, podem estar favorecendo indivíduos que possuem certos padrões (MAAN e CUMMINGS, 2008; CROTHERS et al., 2011).

A seleção sexual surgiu para explicar a origem e a evolução de características sexuais dimórficas, ou seja, de diferenças fisiológicas, morfológicas e comportamentais encontradas entre machos e fêmeas, e que não podiam ser explicadas somente pela teoria de seleção natural (DARWIN, 1884). Dicromatismo sexual é uma forma de dimorfismo sexual onde machos e fêmeas diferem em tonalidades de cor e em padrão de coloração, sendo comum e bastante estudado em aves (ANDERSON, 1994). Entretanto, o dicromatismo sexual foi descrito para aproximadamente 100 espécies de anuros (BELL e SAMUDIO, 2012). É importante ressaltar que antes disso o dicromatismo sexual era conhecido para somente 25 espécies de anuros, menos de 0,5% das espécies conhecidas (HOFFMAN, 2000). Isso sugere que a ocorrência desse padrão possa ser muito mais comum, mas ainda não observado ou descrito.

O presente estudo tem como objetivo principal avaliar a variação individual nos sinais cromáticos, em populações naturais de *Pithecopus azureus*. Para isso (1) descrevo e documento, em detalhes, as principais variações no espectro de reflectância das cores do dorso e flanco e no padrão de manchas dos flancos; e (2) testo a hipótese da ocorrência de dicromatismo sexual na espécie.

MATERIAIS E MÉTODOS

Espécie de estudo

A Família Phyllomedusidae, comumente conhecida como pererecas-de-folhagem, estão entre os sapos mais carismáticos do mundo (ÁLVARES, 2009; FAIVOVICH et al., 2010). O nome, do grego phyllos = folha e medusa = protetora, faz alusão à coloração dorsal esverdeada críptica e modo peculiar de vida essencialmente

arborícola. A subfamília é constituída por 62 espécies, distribuídas em cinco gêneros e ocorrendo entre o México e Argentina (FAIVOVICH et al., 2010; DUELMANN et al., 2016; FROST, 2017).

O gênero *Pithecopus*, possui 10 espécies encontradas na América do Sul (FAIVOVICH et al., 2010; DUELLMAN et al., 2016; FROST, 2017). Uma característica marcante desse gênero é a coloração conspícua em tons de vermelho, azul ou amarelo, encontrada na região lateral do corpo, nos flancos, coxa e tibia. Por ser altamente variável entre indivíduos, esse padrão tem sido utilizado como método de identificação individual em estudos populacionais e comportamentais (RODRIGUES, 2012; CANDIDO, 2013). Essa coloração, aliada à toxicidade conhecida no gênero, tem sido atribuída a aposematismo nas espécies, principalmente para predadores como serpentes (SAZIMA, 1974; TOLEDO E HADDAD, 2009). Entretanto, toxinas presentes nas glândulas de veneno de *Pithecopus* parecem não funcionar como eficiente mecanismo de defesa para algumas espécies de serpentes do gênero *Chironius* e *Leptodeira* (NASCIMENTO et al., 2009; FALKENBERG et al., 2013). Contudo, é comum em várias espécies do gênero o comportamento de imobilidade como outro mecanismo de defesa. Conhecido como *shrinking behavior*, consiste no animal contrair os membros, arquear a cabeça e o corpo, esconder a coloração conspícua, e fechar os olhos (TOLEDO et al., 2010). Esses diferentes tipos de mecanismos de defesa podem ter evoluído sob diferentes pressões de predação, e podem ser explicados pela adaptabilidade do predador em tolerar, ou não, o veneno da espécie.

Os machos de *Pithecopus* são bastante territorialistas e embates físicos pelo estabelecimento e manutenção dos territórios são conhecidos para as espécies do gênero (WOGEL et al., 2004; COSTA et al., 2010; DE OLIVEIRA et al., 2011). Algumas espécies exibem comportamentos de sinalização visual durante esses encontros agonísticos, que envolvem movimentos das mãos (“*hand-waving*”), descrito para *Pithecopus azureus*, ou engodo pedal ou movimentos bruscos com as pernas (“*pedal luring*” e “*leg kicking*”) para *P. sauvagi*, *P. burmeisteri* e *P. boliviana* (HÖDL e AMÉZQUITA 2001; ABRUNHOSA e WOGEL, 2004; KÖHLER, 2008).

Pithecopus azureus, escolhida como modelo para o presente estudo, é uma espécie comum, de hábitos noturnos, relativamente abundante onde ocorre, com ampla distribuição geográfica e associada às formações abertas do bioma Cerrado. Ocorre durante todo o período chuvoso e vocaliza dentro de arbustos às margens de ambientes lânticos (RODRIGUES et al., 2007; DE FREITAS et al., 2008; ÁLVARES, 2009; BRANDÃO et al., 2009; COSTA et al., 2010; DIAS et al., 2014; HAGA et al., 2017). Indivíduos de *P. azureus* possuem coloração de barras negras e vermelhas na região dos flancos, coxas e tíbias, sendo sua origem e função desconhecidas (Figura 1).



Figura 1. Coloração e padrão de manchas nos flancos, coxas e tíbias em *Pithecopus azureus*. Foto: Daniel Velho.

Área de Estudo

Foram estudadas duas populações de *P. azureus* encontradas em poças artificiais, situadas em áreas de cerrado na Fazenda Água Limpa (FAL) da Universidade de Brasília (47° 56' 46,30" O; 15° 58' 35,11" S) e em uma nascente rodeada por uma matriz de Cerrado situada na região da nascente do Córrego do Urubú, Brasília-DF (47° 51' 40" O; 15° 41' 52,47" S). A FAL possui aproximadamente 4.500 hectares de Cerrado bem conservado, está inserida na Área de Proteção Ambiental (APA) Gama Cabeça de Veado e a Área de Relevante Interesse Ecológico (ARIE) Capetinga/Taquara, situada no Distrito Federal e distante apenas 28 quilômetros do centro de Brasília. A área do Córrego do Urubu faz parte do Núcleo Rural Córrego do Urubu, pertencente à Região Administrativa do Lago Norte – RA XVIII, situada aproximadamente a 12 km do centro de Brasília. Constituída principalmente por

chácaras, foi criada com intuito de consolidar a modalidade de ocupação humana e preservação ambiental.

Amostragem e Coleta de Dados

As coletas de dados foram realizadas durante a noite, através da busca ativa por machos e fêmeas de *P. azureus* durante o período reprodutivo da espécie, que ocorreu de outubro de 2014 a março de 2015. Os locais de capturas e recapturas dos indivíduos foram marcados em campo com fitas sinalizadoras.

Logo após a captura, os animais foram armazenados em sacos plásticos e levados para laboratório montado próximo ao local de captura, onde foram tomadas medidas de reflectância com o uso de um espectrofotômetro Ocean Optics USB4000 e uma fonte de luz de xenônio pulsante PX-2 (Ocean Optics, Dunedin, Florida), que fornece iluminação no espectro ultra-violeta, infra-vermelho e visível para humanos (300-900nm). Foi utilizado um segurador de fibra óptica, em alumínio anodizado, com ângulo de 45° para (1) reduzir brilho e reflexão especular, (2) eliminar luz do ambiente, e (3) padronizar a distância de 2 mm entre a sonda e a pele e a área de varredura em 2 mm de diâmetro (SZTATECSNY et al., 2010). Um branco puro WS-1 (Ocean Optics) foi utilizado para calibrar o espectrofotômetro entre cada medição. Selecionei áreas na região dorsal e região mais avermelhada do flanco direito para a amostragem, devido ao fato de serem as regiões com coloração mais contrastantes e mais visíveis para conspecíficos. Por fim, foram tomadas as médias para três medidas repetidas de cada uma dessas regiões analisadas.

Para as análises do padrão de coloração no flanco foram feitas fotografias da região lateral direita dos sapos, posicionados sobre uma régua de precisão para servir de escala, utilizando câmera digital Cannon (modelo PowerShot ELPH 110 HS). Todos os indivíduos foram pesados com a utilização de balanças de precisão do tipo Pesola e tomada a medida do comprimento rostro-uróstilo, com utilização de paquímetro milimétrico. Os indivíduos capturados, machos e fêmeas, tiveram etiquetas fluorescentes visíveis (VIE Alpha Tags - Northwest Marine Technology Inc.) implantadas na região ventral da coxa. Após os procedimentos, os indivíduos foram soltos nos seus respectivos locais de captura.

Análise dos Dados

Para a análise de refletância, foram tomadas medidas de três variáveis (acromáticas e cromáticas), sendo elas: brilho médio, matiz e saturação, além de saturação do espectro para a região vermelha no flanco (saturação da faixa do carotenoide), utilizando o pacote PAVO no programa de estatística R. Brilho refere-se à intensidade de radiação medida em fluxo de energia por unidade de área e tempo, a matiz ao pico de reflectância ou frequência dominante no comprimento de onda, e o croma a pureza, ou saturação da frequência dominante (BRADBURY e VEHRENCAMP, 1998).

As imagens das fotografias do padrão de coloração do flanco foram analisadas utilizando o programa ImageJ e foram extraídas medidas de seis variáveis: área total do padrão, área da coloração avermelhada, área coberta pela coloração, além da razão de coloração vermelha com referência à área total (área de vermelha/área total), razão da coloração preta com referência à área total (área de preto/ área total) e razão do sinal (área de vermelho/área do preto).

Procedimentos Estatísticos

Primeiramente foram realizadas análises estatísticas descritivas para as variáveis de reflectância e padrão de coloração (média, desvio padrão e coeficiente de variação). Em seguida, foi realizada uma Análise de Variância (ANOVA) para testar a hipótese de dicromatismo sexual, retirando o efeito do tamanho e sexo dos indivíduos, das variáveis de reflectância e variáveis do padrão de coloração de machos nos flancos, com correção post hoc para o nível de significância de 0,05 (QUINN e KEOUGH, 2002).

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011).

RESULTADOS

Reflectância espectrométrica de *Pithecopus azureus*

As análises de reflectância foram realizadas para 48 indivíduos, sendo 36 indivíduos machos e 12 fêmeas, capturados em atividade reprodutiva nos meses de dezembro e janeiro da estação que teve início no ano de 2014. Visualmente, ambos os sexos apresentam coloração dorsal esverdeada vívida, enquanto os flancos exibem cores que variam do vermelho-alaranjado ao vermelho-escarlata, intercalados por padrões de

coloração preta compostos por barras transversais, barras longitudinais e um misto de barras transversais, longitudinais, pontos e ocelos.

O espectro de reflectância da região dorsal de *P. azureus* exibe pico de frequência no comprimento de onda que compreende a faixa visível do verde (530nm) e se mantém constante até o espectro do ultravioleta (UV) (Figura 2A). Essa amplitude de frequência no espectro de reflectância encontrada no dorso de *P. azureus* pode ser observada na natureza em indivíduos mais esverdeados e indivíduos mais azulados, embora o último não muito frequente. Estes indivíduos azuis, após serem capturados e manipulados, mudam de cor em poucos minutos e passam do azul-esverdeado para o verde-vívido e verde-escuro. Não o bastante, o espectro de reflectância do dorso mostra ainda um incremento na faixa que compreende o infravermelho. O valor médio encontrado para a matiz do dorso foi de $535,7 \pm 156,9$ nm (N=48) e o coeficiente de variação (CV) foi de 29.2%. A média do brilho no dorso foi $527,9 \pm 106$ (N=48) e CV de 20%. Por fim, a saturação média foi de $1,94 \pm 0,46\%$ e CV igual a 23,9% (Tabela 1).

Os flancos, a maior parte das coxas e partes internas das mãos e pés, constituem as áreas do corpo que possuem maior variação do sinal. Essa variação não foi somente observada nos padrões de mancha, como ainda na saturação da cor vermelha (saturação da faixa do carotenoide). O espectro de reflectância mostra um pico dominante no comprimento de onda do espectro visível do vermelho seguindo para o infravermelho (Figura 2B). O valor médio encontrado para matiz no flanco foi de $673,8 \pm 123$ nm (N=48) e o CV de 18,3%. A média do brilho foi de $782,4 \pm 224$ nm (N=48) e o CV 28,6%. A saturação média foi $2.20 \pm 0.30\%$ e CV igual a 13,4%. Por fim, a saturação média na faixa de reflectância dos carotenoides apresentou a maior variação com CV igual a 376,9% e média de $9,98 \pm 37,6\%$ (Tabela 1).

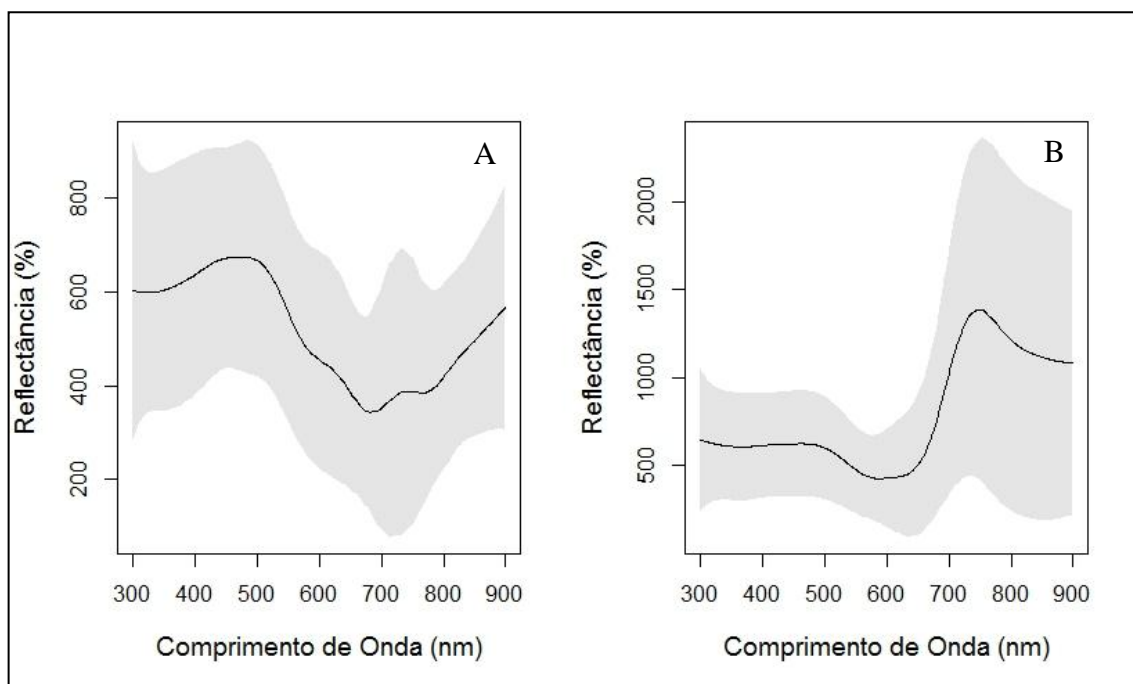


Figura 2. Média do espectro de reflectância da coloração da área do dorso (A) e dos flancos (B) de *Pithecopus azureus*. A linha representa a média e a área em cinza o desvio padrão.

Padrão de manchas nos flancos de *Pithecopus azureus*

Foram tiradas fotografias do padrão dos flancos de 116 indivíduos, sendo 94 machos e 22 fêmeas, em atividade reprodutiva (período reprodutivo 2014-2015). De acordo com as recapturas dos indivíduos, observei que o padrão de manchas nos flancos de *P. azureus* está atrelado à identidade dos indivíduos, pois não variou durante o estudo e, através de observações de imagos mantidos em laboratório, o padrão se define e se mantêm em até um mês após a metamorfose. Constatei variação no padrão de barras pretas nos flancos entre os indivíduos capturados e essa variação foi caracterizada em três grupos distintos: o grupo com menor abundância foi composto de indivíduos com padrões de barras pretas longitudinais (4,2%); em seguida os indivíduos caracterizados por possuírem barras transversais (18,5%); e o grupo mais abundante apresentou padrões mistos, compostos por barras transversais, longitudinais, pontos e ocelos (77,3%) (Figura 3).

A área do padrão de barras pretas intermeada à cor vermelha no flanco compreende uma região significativa da superfície no corpo dos indivíduos e se somada com todas as áreas cobertas por esse padrão, como coxas, braços, mãos e pés,

compreende facilmente mais da metade do corpo do animal. A área total do padrão no flanco direito é de $108 \pm 27,8 \text{ mm}^2$ (34,0 - 222,1; N=116), sendo que a maior parte desse padrão coberto pela coloração vermelha tem média de $44,11 \pm 9,86 \text{ mm}^2$ (23,9 - 77,9; N=116). A média da área de manchas pretas foi de $29,54 \pm 11,44 \text{ mm}^2$ (6,22 - 74,15; N=116). A razão da área do vermelho no flanco foi de $0,41 \pm 0,07\%$ (0,22 - 0,70; N=116), a razão da cor preta foi de $0,26 \pm 0,05\%$ (0,14 - 0,40; N=116), e a razão da área do vermelha/preta foi de $1,65 \pm 0,55\%$ (0,61 - 3,85; N=116) (Tabela 2).

Dentre as variáveis, a área de coloração preta possui maior variabilidade em relação à média populacional, com coeficiente de variação de 37,9%, em seguida a variável razão da cor vermelha/preta com CV de 31,5% e a área total do padrão com o CV de 24,9%. As variáveis razão de preto, área do vermelho e razão de vermelho apresentaram menor variabilidade, com o coeficiente de variação de 21,9%, 20% e 16,45, respectivamente (Tabela 2).

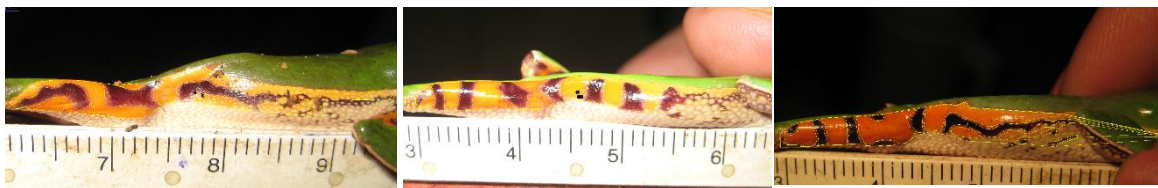


Figura 3. Padrões de barras pretas observadas nos flancos de *Pithecopus azureus*. Da direita para esquerda: padrão de barras longitudinais, padrão de barras transversais e padrão misto.

Dicromatismo sexual em *Pithecopus azureus*

Não existe dicromatismo sexual nas variáveis espectrais do dorso (ANOVA; Matiz: $F_{1,46} = 0,119$; $P = 0,731$; Brilho: $F_{1,46} = 0,007$; $P = 0,934$ e Saturação: $F_{1,46} = 0,769$; $P = 0,385$), e tampouco diferem em características espectrais do flanco (ANOVA; Matiz: $F_{1,46} = 0,009$; $P = 0,925$; Brilho: $F_{1,46} = 0,065$; $P = 0,8$; Saturação: $F_{1,46} = 0,316$; $P = 0,577$ e Saturação do espectro do Carotenóide: $F_{1,46} = 0,633$; $P = 0,43$) (Tabela 1). Na natureza, ambos os sexos possuem coloração dorsal esverdeada e flancos vermelhos. No entanto, fêmeas geralmente apresentam cores verdes mais claras e machos, em alguns momentos, tendem ao azul. Essas nuances ficam evidentes no espectro de reflectância em picos dominantes de reflectância média do dorso de machos e fêmeas. Enquanto em machos existe claramente dois picos dominantes de reflectância, um pico com maior intensidade no comprimento de onda que corresponde ao

ultravioleta (aprox. 400nm) e outro com menor intensidade no comprimento de onda do verde (aprox. 530nm), em fêmeas existe apenas um pico de reflectância com comprimento de onda de aproximadamente 500nm (Figura 4A).

Já o resultado da ANOVA para características do padrão de manchas nos flancos de *P. azureus* corrobora a hipótese de existência de dicromatismo sexual (Área total: $F_{2,112} = 0,11$; $P = 0,001$; Área preto: $F_{2,112} = 15,82$; $P = 0,001$; Área vermelho/preto: $F_{2,112} = 52,33$; $P \ll 0,001$; Razão do Vermelho, $F_{2,112} = 71,66$; $P \ll 0,001$; Razão do preto $F_{2,112} = 29,05$; $P \ll 0,001$) (Tabela 2; Figura 5). Dessa forma, machos de *P. azureus* possuem maior proporção da área do flanco coberta pela cor vermelha e por possuírem uma maior razão da cor vermelha/negra. Fêmeas possuem uma maior proporção de cor preta e uma menor razão de cor vermelha/preta nos flancos (Figura 5).

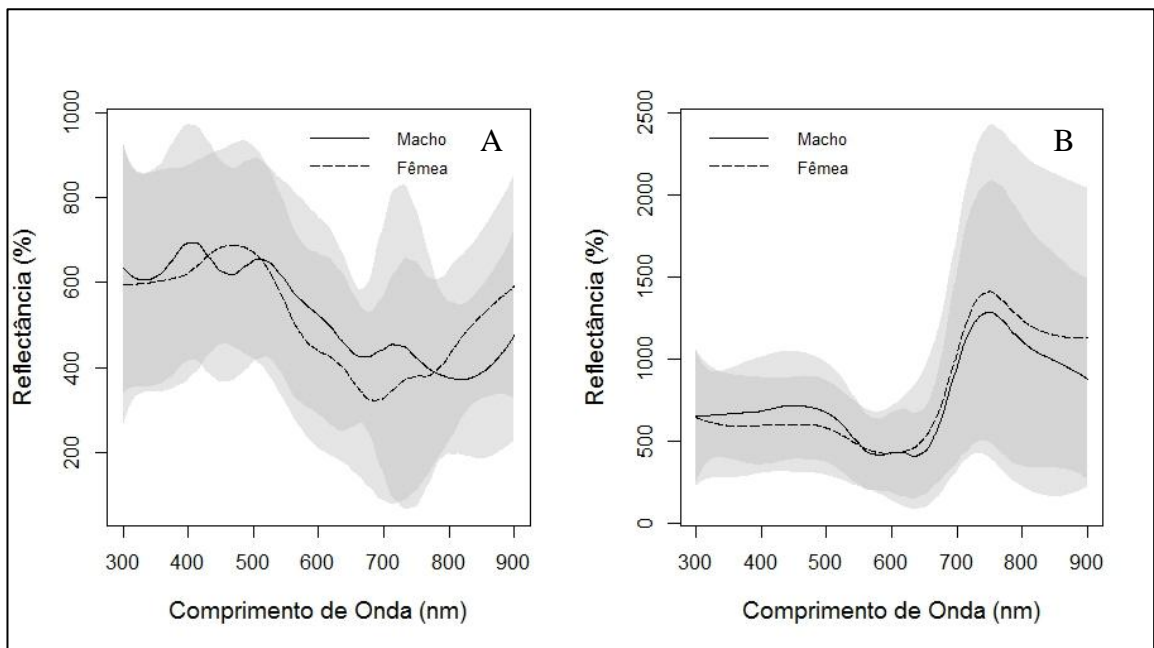


Figura 4. Espectro de reflectância de machos e fêmeas de *Pithecopus azureus*. A linha representa a média e área em cinza, o desvio padrão. (A) área do dorso e (B) área dos flancos.

Tabela 1. Estatística descritiva das medidas de reflectância de *Pithecopus azureus* e valores gerados pela análise de variância (ANOVA).

	Total (N=48)		Machos (N=36)		Fêmeas (N=12)		<i>F</i>	<i>p</i>
	Média ± DP	(CV)	Média ± DP	(CV)	Média ± DP	(CV)		
Dorso								
Matiz (H1)	535.7 ± 156.9	(29.2)	531.1 ± 159.0	(29.9)	549.4 ± 156.3	(28.9)	0.119	0.731
Brilho (B2)	527.9 ± 106.0	(20.0)	528.6 ± 103.4	(19.5)	525.7 ± 118.0	(22.4)	0.007	0.934
Saturação (S8)	1.94 ± 0.46	(23.9)	1.90 ± 0.38	(19.8)	2.04 ± 0.67	(32.7)	0.769	0.385
Flancos								
Matiz (H1)	673.8 ± 123.4	(18.3)	674.8 ± 120.4	(17.8)	670.8 ± 137.8	(20.5)	0.009	0.925
Brilho (B2)	782.4 ± 224.1	(28.6)	787.2 ± 233.1	(29.6)	768.0 ± 203.5	(26.5)	0.065	0.8
Saturação (S8)	2.20 ± 0.30	(13.4)	2.21 ± 0.31	(14.2)	2.16 ± 0.24	(11.2)	0.316	0.577
Saturação Carotenóide (S9)	9.98 ± 37.63	(376.9)	12.49 ± 43.25	(346.3)	2.47 ± 4.00	(162.2)	0.633	0.43

Tabela 2. Estatística descritiva das áreas do padrão de coloração nos flancos de *P. azureus* e valores gerados pela análise de variância (ANOVA).

	Total (N=116)		Machos (N=94)		Fêmeas (N=22)		<i>F</i>	<i>p</i>
	Média ± DP	(CV)	Média ± DP	(CV)	Média ± DP	(CV)		
Área Total	108.0 ± 27.82	(24.9)	98.94 ± 17.35	(16.1)	146.9 ± 30.87	(21)	11	0.001
Área Vermelho	44.11 ± 9.86	(21.9)	43.24 ± 9.26	(20.9)	47.82 ± 11.62	(24.3)	0.047	0.828
Área Preto	29.54 ± 11.44	(37.9)	25.43 ± 6.36	(23.7)	47.12 ± 11.75	(24.9)	15.82	0.001
Proporção Vermelho/Preto	1.65 ± 0.55	(31.5)	1.79 ± 0.50	(25.8)	1.04 ± 0.24	(23.9)	52.33	>> 0.001
Razão de Vermelho	0.41 ± 0.07	(16.4)	0.43 ± 0.05	(12)	0.32 ± 0.05	(17.9)	71.66	>> 0.001
Razão de Preto	0.26 ± 0.05	(20.0)	0.25 ± 0.05	(19.9)	0.31 ± 0.03	(10)	29.05	> 0.001

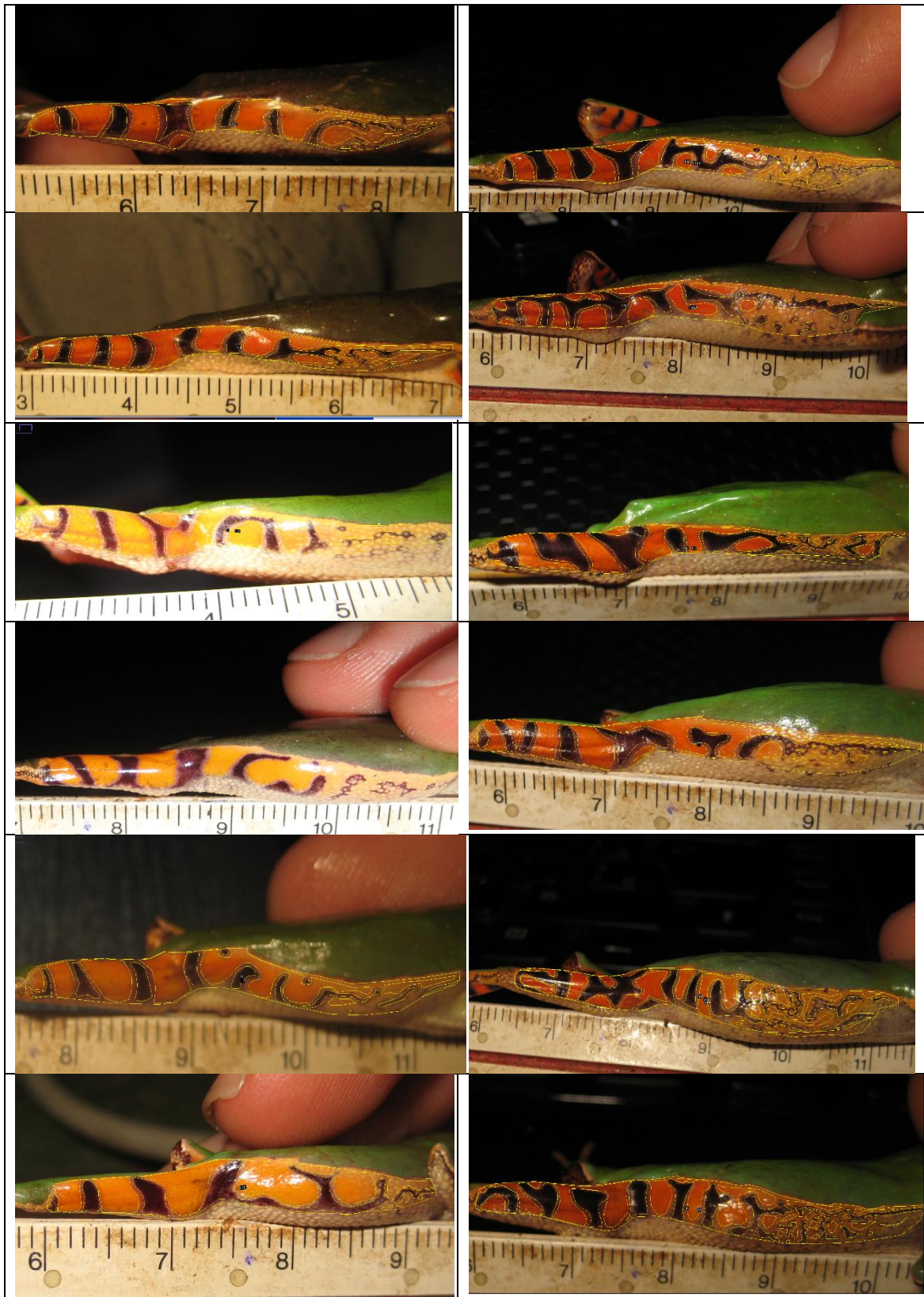


Figura 5. Padrão de coloração de machos (coluna da esquerda) e fêmeas (coluna da direita).

DISCUSSÃO

A análise de reflectância revelou uma característica ainda não conhecida para a Família Phyllomedusidae que é a reflectância do espectro não visível do UV. O espectro de reflectância do dorso para algumas espécies da Família Phyllomedusidae (*Agalychnis callidryas*, *A. dacnicolor* e *Pithecopus sauvagi*) já foi medido, e mostra um acentuado incremento no espectro do infravermelho (> 700nm) com um pequeno pico de reflectância no espectro visível do verde (aprox. 530nm), embora, nenhuma reflectância no espectro do UV tenha sido relatada (EMMERSON et al., 1990). *Pithecopus azureus* possui um pico dominante no espectro visível que constitui o verde e o sinal segue constante para a região de reflectância do UV, com um incremento no comprimento de ondas do infravermelho.

A reflectância no espectro do UV é bastante comum em peixes (BENNETT et al., 1996; CUMMINGS et al., 2003) e lagartos (STAPLEY e WHITING, 2006) e tem sido sugerida como tendo uma função como um canal privado na comunicação visual de algumas espécies de peixes, aumentando a conspicuidade para intraespecíficos e, ao mesmo tempo, diminuindo a chance de serem vistos por predadores (BENNETT et al., 1996; CUMMINGS et al., 2003). Em anfíbios anuros a reflectância no UV tem ganhando mais atenção na comunicação visual, uma vez que esses animais possuem sensibilidade na retina entre as faixas de 280 a 540nm mediada por células especializadas, bastonetes vermelhos, e pelo fato do UV estar amplamente distribuído em taxa não aparentados (GOVARDOSKII e ZUEVA, 1974; EMMERSON et al., 1990; SUMMERS et al., 2003; RIES et al., 2008; SZTATECSNY et al., 2010). Ademais, o UV tem sido apontado como um agente importante para a informação visual em espécies de reprodução explosiva, atuando principalmente na comunicação intrasexual, facilitando o reconhecimento rápido dos sexos e evitando amplexos indesejados que poderiam diminuir o sucesso reprodutivo individual (RIES et al., 2008; SZTATECSNY et al., 2010).

O infravermelho (IV) também está presente no espectro de reflectância no dorso de *P. azureus* conforme observado por Emerson e colaboradores (1990) para a Família Phyllomedusidae, e também nos flancos de *P. azureus*. *Pithecopus azureus* emite vocalizações enquanto expõe as partes visíveis dos flancos e, constantemente, patrulham territórios em marcha lenta procurando por fêmeas e machos intrusos ou satélites (FREITAS et al., 2008; COSTA et al., 2010; DIAS et al., 2014). Contudo, os flancos

constituem as partes mais conspícuas, possuem a maior variação do sinal no espectro que compreende a faixa de saturação do carotenoide e são fortemente contrastantes contra o fundo da vegetação, que geralmente constitui-se de folhas verdes. Pigmentos carotenoides já foram identificados como mediadores da coloração de sacos vocais de *Hyla arborea*. Tal coloração aparenta ser um sinal honesto da qualidade dos machos, uma vez que testes laboratoriais mostram a preferência de fêmeas por machos que possuem sacos vocais mais avermelhados (GOMEZ et al., 2009; RICHARDSON et al., 2009). Dessa forma, é possível que a região dos flancos atue como canal privativo na comunicação de *P. azureus*, da mesma forma que ocorre em peixes do gênero *Xiphophorus*, aumentando a conspicuidade do sinal intraespecífico e, ao mesmo tempo, conferindo uma vantagem na fuga de predadores, com mimetismo do espectro não visível do infravermelho (SCHWALM et al., 1977; EMERSON et al., 1990; BAGNARA, 2003; TOLEDO e HADDAD, 2009).

A variação dos sinais no padrão de manchas nos flancos pode ser observada tanto nas formas quanto na área coberta pelas cores vermelho e preto. Essas manchas e padrões tem sido atribuídas à defesa em espécies do gênero *Pithecopus* na forma de aposematismo (TOLEDO e HADDAD, 2009) mesmo estas apresentando o comportamento de imobilidade ou encolhimento (“*shrinking behavior*”). O presente estudo mostrou que existe dicromatismo sexual na espécie no tamanho das áreas vermelha e preta nos flancos, onde machos possuem maiores áreas de vermelho nos flancos do que fêmeas. É possível que fêmeas selecionem essa característica, e toda a variação no sinal tenha se originado e se mantido no contexto da seleção sexual e não da seleção natural, como anteriormente sugerido (TOLEDO e HADDAD, 2009; ROJAS, 2016). Ademais, para que um sinal seja considerado aposemático é preciso que seja simples e uniforme e não tenha muitas variações, para facilitar o aprendizado do predador e manter sua associação entre o padrão de manchas e a impalatabilidade (ENDLER, 1988; ENDLER e MAPPE, 2004).

Pithecopus azureus é uma espécie de reprodução prolongada. Machos podem defender seus territórios por mais de uma estação reprodutiva (Capítulo 3) e, portanto, o sinal do infravermelho nos flancos e UV no dorso podem estar envolvidos em contexto intrasexual e também intersexual. Entretanto, esta hipótese deve ser testada para descobrir a real importância desses sinais do espectro não visível (IV e UV) na espécie.

CONCLUSÃO

O presente trabalho descreve a reflectância espectral em uma espécie do gênero *Pithechopus* e, pela primeira vez, mostra a existência do sinal ultravioleta e dicromatismo sexual em uma espécie do gênero (*P. azureus*). Dicromatismo sexual é pouco estudado em anfíbios e a sua ocorrência vem sendo subestimada. Esse tipo de dicromatismo pode estar presente de forma muito pouco evidente, como ocorre em *P. azureus*, ou na forma de dicromatismo sexual dinâmico (veja BELL e SAMUDIO, 2013). O dicromatismo dinâmico pode ocorrer de forma brusca, como foi notado no dorso da espécie, que é capaz de mudar de cor em pouco minutos.

Esse trabalho abre portas para o estudo de dicromatismo sexual na Família Phyllomedusidae, que pode ser mais comum do que imaginamos. Além disso, mostra que o padrão de manchas é muito variável entre os indivíduos e, portanto, não deve ser considerada característica diagnóstica para espécies do gênero, pois não está atrelada a fatores históricos e filogenéticos, mas sim a aspectos da ecologia reprodutiva e comportamentais da espécie. Além disso, esse padrão pode estar envolvido na comunicação social, em contextos de identificação individual, no reconhecimento de vizinhos próximos, e mediar a agressividade entre os indivíduos.

Estudos bioquímicos para caracterizar os pigmentos que constituem a coloração avermelhada dos flancos, coxas e tíbias, estudo da sensibilidade espectral da retina e estudos comportamentais testando a preferência das fêmeas por características de coloração e o sucesso reprodutivo dos machos são essenciais para entender seleção sexual em Phyllomedusidae.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRUNHOSA, P. A. e WOGEL, H. 2004. Breeding behavior of the leaf- frog *Phyllomedusa burmeisteri* (Anura: Hylidae). *Amphibia-Reptilia* 25: 125-135.
- ALLEN, G. 1879. The Colour-sense: Its Origin and Development. An Essay in Comparative Psychology. Editora Trübner & Company, Edinburgh, London. 282 pags.

- ÁLVARES, G. F. A. 2009. Taxonomia, distribuição geográfica potencial e conservação das espécies de *Phyllomedusa* do grupo *hypochondrialis*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Florestal, Publicação PGEFL – 116/09, Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, DF, 95 pags.
- AMÉZQUITA, A. e HÖDL, W. 2004. How, when, and where to perform visual displays: the case of the Amazonian frog, *Hyla parviceps*. *Herpetologica* 60: 420-429.
- BAGNARA, J., TAYLOR, J. D. e HADLEY, M. E. 1968. The dermal chromatophore unit. *Journal of Cell Biology* 38: 67-79.
- BAGNARA, J., TAYLOR, J. D. e PROTA, G. 1973. Color changes, unusual melanosomes, and a new pigment from leaf frogs. *Science* 182:1034-1035.
- BAGNARA, J. 1976. Color Change. Em: *Physiology of the Amphibia*, Vol. 3. Editor: Lofts, B. Editora New York Academic, NY, USA. Pags 1-44.
- BAGNARA, J. 2003. Enigmas of pterorhodin, a red melanosomal pigment of tree frogs. *Pigment Cell Research* 16: 510-516.
- BELL e SAMUDIO, 2012. Sexual dichromatism in frogs: natural selection, sexual selection and unexpected diversity. *Proceedings of the Royal Society* 279: 4687-4693.
- BUCHANAN, B. W. 1994. Sexual dimorphism in *Hyla squirella*: chromatic and pattern variation between the sexes. *Copeia* 1994: 797-802.
- BRADBURY, J. W. e VEHCENCAMP, S. L. 1998. *Principles of Animal Communication*. Primeira Edição. Editora Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachusetts. USA. 882 Pags.
- CÂNDIDO, C. E. R. 2013. Biologia Reprodutiva de *Phyllomedusa oreades* Brandão, 2002 (Anura: Hylidae), uma espécie endêmica do Cerrado restrita a riacho de altitude. Dissertação de Mestrado em Ciências Florestais, Publicação do Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, DF, 47p.
- CARAMASCHI, U. 2006. Redefinição do grupo de *Phyllomedusa azurea*, com redescritção de *P. megacephala* (Miranda-Ribeiro, 1926), revalidação de *P. azurea* Cope, 1862 e descrição de uma nova espécie (Amphibia, Anura, Hylidae). *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro* 62: 159–179.

- COSTA, T. B., GUIMARÃES, L. D. e BASTOS, R. P. 2010. Territorial and mating behavior in *Phyllomedusa azurea* (Anura: Hylidae) at a temporary pond in west-central Brazil. *Phyllomedusa* 9: 99-108.
- CROTHERS, L., GERING, E. e CUMMINGS, M. E. 2011 Aposematic signal variation predicts male–male interactions in a polymorphic poison frog. *Evolution* 65:599–605
- CUMMINGS, M. E., ROSENTHAL, G. G. e RYAN, M. J. 2003. A private ultraviolet channel in visual communication. *Proc. Royal Society B:Biological Sciences* 270: 897-904.
- CUMMINGS, M. E., BERNAL, R., REYNAGA, R., RAND, A. S. e RYAN, M. J. 2008. Visual sensitivity to a conspicuous male cue varies by reproductive state in *Physalaemus pustulosus* females. *The Journal of Experimental Biology* 211: 1203-1210.
- DARWIN, C. 1884. *The Descent of Man and Selection in Relation to Sex*. Editora John Murray. Segunda Edição. Londres. 688 pags.
- DALY, J. W., MYERS, C. W. e WHITTAKER, N. 1987. Further classification of skin alkaloids from neotropical poison frogs (dendrobatidae), with a general survey of toxic/noxious substances in the amphibian. *Toxicon* 25: 1023-1095.
- DE FREITAS, E. B, DE-CARVALHO, C. B., FARIA, R. G., BATISTA, R. C., BATISTA, C. C., COELHO, W. A. e BOCCHIGLIERI. A. 2008. Nicho ecológico e aspectos da história natural de *Phyllomedusa azurea* (Anura: Hylidae, Phyllomedusinae) no Cerrado do Brasil Central. *Biota Neotropica* 8: 2-11.
- DE LUNA, G., HÖDL, W. e AMÉZQUITA, A. 2010. Colour, size and movement as visual subcomponents in multimodal communication by the frog *Allobates femoralis*. *Animal Behaviour* 79: 739-745.
- DE OLIVEIRA, F. F. R., NOGUEIRA, P. A. G. e ETEROVICK, P. C. 2011. Natural history of *Pithecopus megacephalus* (Miranda-Ribeiro, 1926) (Anura: Hylidae) in southeastern Brazil, with descriptions of its breeding biology and male territorial behavior. *Journal of Natural History* 46: 117-129.
- DIAS, T. M., MARAGNO, F. P., PRADO, C. P. A. e CECHIN, S. Z. 2014. Reproductive site selection in the leaf-frog *Phyllomedusa azurea* Cope, 1862 (Anura: Hylidae) in altered areas of the Brazilian Cerrado. *Journal of Natural History* 48: 2689 - 2699.

DUELLMAN, E. W. e TRUEB, L. 1994. *Biology of Amphibians*. Editora The Johns Hopkins University. Baltimore, Maryland, USA. 670 pags.

DUELLMAN, E. W., MARION, A. B. e HEDGES, S. B. 2016. Phylogenetics, classification, and biogeography of the treefrogs (Amphibia: Anura: Arboranae). *Zootaxa* 4104: 1- 109.

ENDLER, J. A. 1990. On the measurement and classification of colour in studies of animal colour patterns. *Biol. Journal Linnean Society* 41: 315-352.

ENDLER, J. A. 1992. Signals, signal conditions, and the direction of evolution. *The American Naturalist* 139: 125-153.

ENDLER, J. A. e MAPPES, J. 2004. Predator mixes and the conspicuousness of aposematic signals. *American Naturalist* 163: 352–547.

EMERSON, S. B., COOPER, T. A. e EHLERINGER, J. R. 1990. Convergence in reflectance spectra among treefrogs. *Functional Ecology* 4: 47-51.

FAIVOVICH, J., HADDAD, C. F. B., BAËTA, D. JUNGFER, K.H., ÁLVARES, G. F. R. A., BRANDÃO, R. A., SHEIL, C., BARRIENTOS, L. S., BARRIO-AMORÓS, C. L., CRUZ, C. A.G. e WHEELER, W. C. 2010. The phylogenetic relationship of the charismatic poster frogs Phyllomedusinae (Anura, Hylidae). *Cladistics* 26: 227-261.

FALKENBERG, L. M., PROTÁZIO, A. S., ALBUQUERQUE, R. L. e MESQUITA, D. O. 2013. Predation of *Phyllomedusa nordestina* (Anura: Hylidae) by *Leptodeira annulata* (Serpente: Dipsadidae) in a temporary pond. *Herpetology Notes* 6: 97-98.

FROST, D. R. 2017. Amphibian Species of the World: Uma Referência Online. Versão 6.0. Disponível em: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA (acessado em Junho de 2017).

GOMÉZ, D., RICHARDSON, C., LENGAGNE, T., DEREK, M., PLENET, S., JOLY P., LÉNA, J. P., THÉRY, M. 2009. The role of nocturnal vision in mate choice: females prefer conspicuous males in the European tree frog (*Hyla arborea*). *Proc. Royal Society: Biological Sciences* 276: 2351-2358.

GOVARDOVSKIĀ, V. I. E ZUEVA, L. V. 1974. Spectral sensitivity of the frog eye in the ultraviolet and visible region. *Vision Research* 14: 1317-1321.

HAGA, I. A., DE CARVALHO, T. R., DE, ANDRADE, F. S. e GIARETTA, A. A. 2017. Advertisement and aggressive calls of *Pithecopus azureus* (Anura:

Phyllomedusidae) from the border of Brazil and Paraguay. *Phyllomedusa* 16: 47-56.

HÖDL, W. e AMÉZQUITA, A. 2001. Visual signaling in anuran amphibians. In: Anuran Communication. Editor M. J. Ryan. Editora Smithsonian Institution. Washington, EUA. Pags 121-141.

HOFFMAN, E. A. e BLOUIN, M. S. 2000. A review of color and pattern polymorphisms in anurans. *Biological Journal of the Linnean Society* 70: 633-665.

HOUDE, A. E. 1987. Mate choice based upon naturally occurring color-pattern variation in a Guppy Population. *Evolution* 41: 1-10.

KELBER e ROTH, 2006. Nocturnal colour vision – not as rare as we might think. *Journal of Experimental Biology* 209: 781-788.

LÖTTERS, S., JUNGFER, K. H., HENKEL, F. W. e SCHMIDT, W. 2007. Poison Frogs: Biology, Species and Captive Husbandry. Editora Chimaira, Frankfurt. 668 pags.

MAAN, M. E. e CUMMINGS, M. E. 2008. Female preferences for aposematic signal components in a polymorphic poison frog. *Evolution* 62: 2334–2345

NASCIMENTO, B. T. M., MEJIA, M., ELLIS, M., MAFFEI, F. 2004. *Phyllomedusa* spp. (Anura, Hylidae): predation by *Leptodeira annulata* (Serpentes, Dipsadidae). *Herpetologia Brasileira* 2: 20-23

PALUH, D. J., HANTAK, M. M. e SAPORITO, R. A. 2014. A test of aposematism in the dendrobatid poison frog *Oophaga pumilio*: The Importance of movement in clay model experiments. *Journal of Herpetology* 48: 249-254.

PODOS, J. 2000. Correlated evolution of morphology and vocal signal structure in Darwin's finches. *Nature* 409: 185-188.

QUINN, G. e KEOUGH, M. 2002. Experimental Design and Data Analysis for Biologists. Editora Cambridge University Press. Cambridge, UK. 537 pags.

ROJAS, B. 2016. Behavioural, ecological, and evolutionary aspects of diversity in frog colour patterns. *Biological Reviews* 92: 1059-1080.

R DEVELOPMENT CORE TEAM 2011. R: A Language and Environment for Statistical Computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, AU. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>.

- RICHARDSON, C., POPOVICI, J., BELLVERT, F. e LENGAGNE, T. 2009. Conspicuous colouration of the vocal sac of a nocturnal chorusing treefrog: carotenoid-based? *Amphibia-Reptilia* 30: 576-580.
- RIES, C., SZTATECSNY, M., STRONDL, C. e HÖDL, W. 2008. Turning blue and ultraviolet: Sex-specific color change during the mating season in the Balkan moor frog. *Journal of Zoology* 276: 229-236.
- RODRIGUES, D. J., UETANABARO, M. e LOPES, F. S. 2007. Breeding biology of *Phyllomedusa azurea* Cope, 1862 and *P. sauvagii* Boulenger, 1882 (Anura) from the Cerrado, Central Brazil. *Journal of Natural History* 41: 1841 – 1851.
- SAPORITO, R. A., ZUERCHER, R., ROBERTS, M., KENNETH, G. e DONNELLY, M. A. 2007. Experimental evidence for aposematism in the Dendrobatid poison frog *Oophaga pumilio*. *Copeia* 2007: 1006-1011.
- SAZIMA, I. 1974. Experimental predation on the leaf-frog *Phyllomedusa rohdei* by the water snake *Liophis miliaris*. *Journal of Herpetology* 8: 376-377.
- SCHMIDT, V., SCHAEFER, H. M. e WINKLER, H. 1994. Conspicuousness, not colour as foraging cue in plant-animal signalling. *Oikos* 106: 551-557.
- SIDDIQI, A., CRONIN, T. W., LOEW, E. R., VOROBYEV, M. e SUMMERS, K. 2004. Interspecific and intraspecific views of color signals in the strawberry poison frog *Dendrobates pumilio*. *Journal of Experimental Biology* 207: 2471-2485.
- SUMMERS, K., SYMULA, R., CLOUGH, M. e CRONIN, T. 1999. Visual mate choice in poison frogs. *Proceedings of the Royal Society of London* 266: 2141-2145.
- SUMMERS, K., CRONIN, T. W. e KENNEDY, T. 2003. Variation in spectral reflectance among populations of *Dendrobates pumilio*, the strawberry poison frog, in the Bocas del Toro Archipelago, Panama. *Journal of Biogeography* 30: 35-53.
- SUMMERS, K. e CLOUGH, M. E. 2001. The evolution of coloration and toxicity in the poison frog family (Dendrobatidae). *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98: 6227- 6232.
- SCHWALM, P., STARRETT, P. e MCDIARMID, R. 1977. Infrared reflectance in leaf-sitting neotropical frogs. *Science* 196: 1225-1227.
- STAPLEY, J. E WHITING, M. J. 2006. Ultraviolet signals fighting ability in a lizard. *Biology Letters* 2: 169 – 172.

SZTATECSNY, M., STRONDL, C., BAIERL, A., RIES, C. e HÖDL, W. 2010. Chin up: are the bright throats of male common frogs a condition-independent visual cue? *Animal Behaviour* 79: 779-786.

TOLEDO, L. F. e HADDAD, C. F. B. 2009. Colors and some morphological traits as defensive mechanisms in Anurans. *International Journal of Zoology* 2009: 1-12.

TOLEDO, L.F., SAZIMA, I e HADDAD, C. F. B. 2010. Is it all death feigning? Case in anurans. *Journal of Natural History* 41: 1979-1988.

VEILLEUX, C. C. e CUMMINGS, M. E. 2012. Nocturnal light environments and species ecology: Implications for nocturnal color vision in forests. *The Journal of Experimental Biology* 215: 4085-4096.

WELLS, K. 2006. *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press. Chicado. USA. 1148 pags.

WILCZYNSKI, W., RAND, A.S. e RYAN, M.J. 1995. The processing of spectral cues by the call analysis system of túngara frog, *Physalaemus putulosus*. *Animal Behaviour* 49: 911-929.

Capítulo 2 – Comportamento Acústico e Visual em *Pithecopus azureus* (Anura: Phyllomedusidae): Qualidades Acústicas e Visuais de Machos Pareados e Não-pareados.

RESUMO

Nos anfíbios anuros a vocalização é a principal forma de comunicação intra- e intersexual. Entretanto, estudos recentes sugerem que sinais visuais possam exercer um papel importante na comunicação bimodal, mesmo em anfíbios de hábitos noturnos. No presente estudo, investiguei a possível função das variáveis acústicas e visuais na preferência de fêmeas. Além disso, investigo se características visuais e acústicas refletem a condição corporal de indivíduos machos e as possíveis demandas conflitantes entre a variável acústica da duração da nota e a reflectância espectrofotométrica do dorso e flanco em *Pithecopus azureus*. Os resultados do estudo mostram que machos encontrados em amplexo possuem características associadas às variáveis cromáticas do dorso, que também refletem a sua condição corporal. Além disso, a maior parte dos machos encontrados em amplexo possuem menor condição corporal, sugerindo a existência de demandas conflitantes na duração do tempo de canto e variáveis de reflectância da cor vermelha no flanco. Dessa forma, o estudo mostra que componentes da modalidade acústica e visual atuam de forma redundante na comunicação intersexual em *P. azureus*.

Palavras-chave: Sinal acústico, sinal visual, seleção sexual, preferência de fêmeas, comunicação interespecífica, condição corporal, demandas conflitantes.

ABSTRACT

Anuran calling behavior is the main form of intersexual communication. However, recent studies demonstrate that visual communication plays an important role in bimodal communication even in nocturnal amphibians. In the present study, the possible role of acoustic and visual variables in female preference was investigated through field observations. In addition, we investigated whether visual and acoustic parameters reflect male body condition and possible tradeoffs between call note duration and dorsal and flank color reflectance variables for *P. azureus*. Results show that paired males have particular characteristics associated with the dorsal chromatic reflectance variables, which also reveal body condition of males, and that most males found in amplexus have lower body condition. In addition, males exhibit possible tradeoffs in call note duration and flank color variables. Finally, the study shows that acoustic and visual modality components convey redundant information in intersexual communication in *P. azureus*.

Keywords: Acoustic signal, visual signal, sexual selection, communication, female preference, body condition, tradeoff.

INTRODUÇÃO

A vocalização pode ser considerada o comportamento mais conspícuo e complexo dos anfíbios anuros (DUELMANN e TRUEB, 1994; WELLS, 2006). Durante o período reprodutivo, são formados imensos agregados de sapos de diferentes espécies em ambientes aquáticos (GERHARDT e HUBER, 2002) e a vocalização é o principal mecanismo de isolamento reprodutivo (BLAIR, 1941), atuando na atração das fêmeas conspecíficas (RYAN, 1985; GERHARDT, 1991) e no estabelecimento de territórios entre machos (BEE e GERHARDT, 2001). Devido às suas diversas funções, o canto de diferentes espécies apresenta graus variados de complexidade. A complexidade da comunicação sonora nos anfíbios pode ser avaliada pela enorme diversidade de sinais acústicos existentes entre as espécies e pela variedade de componentes sonoros que respondem de forma semi-independente a diferentes pressões evolutivas (ROBILLARD et al., 2006; ERDTMANN e AMÉZQUITA, 2009). A evolução destas características sonoras pode ser influenciada por fatores de seleção (sexual e natural), e também por fatores estocásticos, atribuídos a respostas pleiotrópicas e deriva genética (COCROFT e RYAN, 1995; PODOS, 2000; GERHARDT e HUBER, 2002).

Embora os estudos de comunicação acústica com anuros sejam relativamente antigos (cerca de 100 anos; ver RAND, 2001), somente nos últimos 20 anos é que esses estudos elucidaram diferentes funções desse comportamento reprodutivo (RYAN, 1985; GERHARDT, 1991; COCROFT e RYAN, 1995; WILCZYNSKI et al., 1995; MÁRQUEZ e BOSCH, 1997; WELCH et al., 1998; BOSCH e MÁRQUEZ, 2000; BEE e GERHARDT 2001; GERHARDT e HUBER, 2002; RYAN e RAND, 2003; BOSCH e DE LA RIVA, 2004; ROBILLARD et al., 2006). No início, com base na teoria da evolução, os estudos concentravam-se primeiramente na identificação das relações filogenéticas entre as espécies (RAND, 2001). No entanto, em meados do século XX, houve uma grande contribuição da engenharia acústica e da neurofisiologia, mostrando não somente a existência de uma relação intrínseca entre as propriedades espectrais do canto e o pico de sensibilidade dos órgãos auditivos dos indivíduos emissores e receptores dos sinais acústicos (CAPRANICA, 1965), mas também a existência de uma comunicação capaz de transmitir informações indutivas, que podem modificar o comportamento de um ou mais indivíduos (BLAIR, 1968; ver em RAND, 2001). A partir disso, surgiram e se tornam cada vez mais frequentes estudos sobre seleção sexual em anfíbios (RYAN, 1985; GERHARDT, 1991, WELCH et al., 1998), evolução dos

caracteres acústicos (COCROFT e RYAN, 1995; ROBILLARD et al., 2006; ERDTMANN e AMÉZQUITA, 2009) e a influência do ambiente na evolução e manutenção dos cantos (ZIMERMANN, 1983; BOSCH e DE LA RIVA 2004; ZIEGLER et al., 2011).

Um dos principais estudos de longo prazo sobre seleção sexual em anfíbios foi conduzido na Costa Rica (RYAN, 1985). Esse estudo, utilizando como modelo uma espécie de rã *Engystomops pustulosus* (Leiuperinae, Leptodactylidae), concluiu que a complexa vocalização da espécie era formada por duas notas, um gemido “whine”, seguido ou não, por um ou até seis estalos “chucks”, as quais eram responsáveis respectivamente, pelo reconhecimento específico e pela atração das fêmeas. O canto nesta espécie se torna mais atrativo para fêmeas à medida que o macho insere mais estalos ao canto, os tornando energeticamente mais custosos e aumentando sua exposição aos predadores. A frequência dominante dos estalos é negativamente correlacionada ao tamanho dos machos (machos maiores possuem cantos mais graves, com frequências mais baixas), evidenciando um componente que pode indicar qualidade e sofrer pressão de seleção sexual (RYAN, 1985; GERHARDT e HUBER, 2002).

Gerhardt (1991) propôs classificar as propriedades do canto em dinâmicas e estáticas, baseando-se principalmente na variação encontrada no canto de cada macho e entre os machos de três espécies de sapos da família Hylidae. Dessa forma, propriedades estáticas são altamente estereotipadas entre e dentro machos, enquanto que as variáveis dinâmicas podiam variar profundamente numa única série de vocalizações de um indivíduo. Fêmeas de *Dryophytes versicolor* utilizam caracteres dinâmicos, mais custosos, (duração do canto, número de pulsos e razão de cantos por minuto) na seleção de machos (GERHARDT, 1991). Essa preferência permite que fêmeas escolham parceiros reprodutivos com melhor qualidade genética, o que foi demonstrado testando o desempenho dos girinos, sugerindo que o modelo dos bons genes seria a melhor explicação para evolução e manutenção das preferências sexuais nesta espécie (WELCH et al., 1998).

Após anfíbios anuros tornarem-se um modelo bem estabelecido nos estudos de comunicação acústica, tanto da influência do canto na preferência das fêmeas quanto no estabelecimento de territórios, surgiram então questões paralelas relacionadas à comunicação visual nos últimos dez anos, incluindo a atuação do saco vocal, comportamento de “foot flagging”, e coloração (HÖDL e AMÉZQUITA, 2001;

AMÉZQUITA e HÖDL, 2004; ROSENTHAL et al., 2004; TAYLOR et al., 2007; TAYLOR et al., 2008; GOMÉZ et al., 2009; SZTATECSNY et al., 2010; DE LUNA et al., 2010; TAYLOR et al., 2011, SZTATECSNY et al., 2012). No entanto, informações sensoriais múltiplas, ou sinais bimodais, podem aprimorar a decisão das fêmeas na escolha por parceiros, simplesmente por aumentar as informações disponíveis sobre a qualidade dos machos (CANDOLIN, 2003). Em rãs-túngara (*E. pustulosus*) fêmeas expressam preferência por sinais multimodais resultantes principalmente da informação visual do inflar e desinflar do saco vocal gerada simultaneamente com a informação acústica das vocalizações, mesmo sendo estas transmitidas em baixa amplitude (dbs) (ROSENTHAL et al., 2004). Numa espécie de perereca arborícola de hábitos noturnos, *Dryophytes squirellus*, o estímulo visual do saco vocal aumenta a atratividade dos cantos menos atrativos, gerando maior preferência das fêmeas por sinais bimodais (TAYLOR et al., 2011). Em espécies de anfíbios da Família Dendrobatidae, a atração das fêmeas pelos sinais acústicos e o comportamento territorial também é modulada pela presença da informação visual, que pode ser tanto pela expansão do saco vocal quanto pelo simples movimento do indivíduo (ROSENTHAL et al., 2004; NARINS et al., 2005; DE LUNA et al., 2010).

Estudos da importância de cores e do padrão de cor atuando como sinais bimodais em anuros estão cada vez mais frequentes (SUMMERS et al., 1999; SIDDIQI et al., 2004; MAAN e CUMMINGS, 2008; GOMÉZ et al., 2009; DE LUNA et al., 2010; GOMÉZ et al., 2010; SZTATECSNY et al., 2010, SZTATECSNY et al., 2012; TAYLOR et al., 2007). Alguns destes trabalhos foram realizados com espécies de anuros de reprodução explosiva (*Rana temporária* e *R. arvalis*), que mostraram que cores nestas espécies atuam em um contexto intrasexual, ajudando machos a identificar e localizar outros machos em grupos adensados de indivíduos, evitando custos de amplexos indesejáveis (DE LUNA et al., 2010; SZTATECSNY et al., 2010, SZTATECSNY et al., 2012). Outros trabalhos, utilizando espécies aposemáticas e de hábitos diurnos, pertencentes à Família Dendrobatidae, mostram que as variáveis de cor e os padrões de coloração atuam na comunicação tanto intra- quanto inter-sexual. Em contextos intra-sexuais, padrões de cor influenciam no estabelecimento de territórios entre machos (DE LUNA, 2010). Em contextos inter-sexuais, foi estabelecida a existência de preferência das fêmeas em acasalar com machos que possuem atributos da mesma população e machos com maior quantidade de sinal aposemático, mais vistosos

e brilhosos, que poderiam aumentar a adaptabilidade da prole em deter predadores (SUMMERS et al., 1999; MAAN e CUMMINGS, 2008).

Em sapos noturnos arborícolas da Família Hylidae foi demonstrada a existência de preferência das fêmeas pelo padrão de coloração lateral em *Dryophytes squirellus*. Fêmeas desta espécie preferem se acasalar com machos que possuem faixa laterais e labiais mais largas (TAYLOR et al., 2007). Em outra espécie, *Hyla arborea*, existe preferência das fêmeas pela coloração presente no saco vocal, que é atribuída ao pigmento carotenoide, um sinal honesto da qualidade individual (GOMÉZ et al, 2009; RICHARDSON et al., 2009; GOMÉZ, 2010).

Entretanto, características associadas ao sucesso reprodutivo e sobrevivência individual estão sempre sujeitos a demandas conflitantes. Em aves, por exemplo, já foi verificado que a alocação de recursos para atividades custosas, como o comportamento vocal, pode limitar a alocação de recursos em outras atividades, como a produção e manutenção de cores na plumagem (BADIAEV et al., 2002). Em anuros pouco se conhece sobre demandas conflitantes na alocação de energia para a produção de sinais bimodais, ou que possam atuar de forma bimodal, como os sinais acústicos e visuais encontrados em membros do gênero *Pithecopus*.

O objetivo principal do presente trabalho é descrever a relação das variáveis do canto, de cor e do padrão de manchas no flanco com os padrões de acasalamento em *Pithecopus azureus*. Observações em campo do comportamento reprodutivo e análises comparando machos pareados e não-pareados foram utilizados para (1) estimar as preferências sexuais de fêmeas por características acústicas e visuais de machos; (2) determinar a relação entre variáveis da modalidade visual e modalidade acústica com a condição corporal dos indivíduos, com a premissa de que, se existe correlação de cor e padrões de coloração com a condição corporal, é possível que as fêmeas possam utilizar esses sinais para avaliar a qualidade dos indivíduos; e (3) estabelecer as relações entre a variável do sinal acústico de tempo de canto e as variáveis de cores, com a premissa de que, se existem correlações negativas entre elas, é possível que uma modalidade esteja recebendo maior alocação dos recursos energéticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Espécie de Estudo e Comportamento

A Família Phyllomedusidae compreende alguns dos anfíbios mais carismáticos do mundo devido principalmente à coloração dorsal esverdeada, pupilas na posição vertical, hábito estritamente arborícola, ovos terrestres e presença de coloração conspícua na região dos flancos, presente na maior parte das espécies (ÁLVARES, 2009, FAIVOVICH et al., 2010; DUELLMAN et al., 2016). É constituída por 62 espécies, distribuídas em 8 gêneros ocorrendo entre o México e Argentina (FAIVOVICH et al., 2010; DUELLMAN et al., 2016, FROST, 2017).

Comportamentos visuais elaborados já foram bastante documentados na Família mas suas funções ainda são desconhecidas (ABRUNHOSA e WOGEL, 2004; HÖDL e AMÉZQUITA 2001; JANSEN e KÖHLER, 2008; CALDWELL, 2010). Em *Agalychnis callidryas*, a comunicação visual é bastante evidente e complexa (RYAN, 1985) e em interações agonísticas, machos produzem tremulações nos ramos das árvores e a frequência das tremulações está correlacionada com o tamanho dos machos (CALDWELL, 2010). Outros comportamentos já observados no gênero *Pithecopus* envolvem movimentos das mãos (“*hand-waving*”), descrito para *P. azureus*, ou engodo pedal, ou movimentos bruscos com as pernas (“*pedal luring*” e “*leg kicking*”) para *Phyllomedusa. sauvagi*, *P. burmeisteri* e *P. boliviana* (HÖDL e AMÉZQUITA 2001; BERTOLUCI, 2002; ABRUNHOSA e WOGEL, 2004; JANSEN e KÖHLER, 2008). Entretanto, não existe, até o presente momento, estudo sobre o uso da comunicação visual e as possíveis funções da coloração conspícua existente nos flancos de machos e fêmeas na Família.

O gênero *Pithecopus* possui 10 espécies distribuídas na América do Sul (DUELLMAN et al., 2016; FROST, 2017). O gênero é caracterizado pela coloração dorsal verde, pupila na posição vertical, ausência de membranas interdigitais, dedos oponíveis e ovoposição aderida ao interior de uma folha dobrada pendente sobre a lâmina da água (CARAMASCHI, 2006; DUELLMAN et al., 2016). É comum às espécies do gênero uma coloração conspícua nos flancos, coxas e tíbias dos indivíduos, que pode variar tanto na cor (amarelo, laranja e vermelho) quanto nos padrões de forma (ocelos, barras e reticulados). Esse padrão de manchas nos flancos já foi utilizado para identificar indivíduos de *P. oreades* e *P. megacephalus* em estudos de monitoramento e história natural das espécies, e parece ser um sinal individual específico (DE OLIVEIRA, 2011; CANDIDO, 2013). No entanto, não se sabe qual a variação que existe entre os indivíduos.

Pithecopus azureus é uma espécie que possui coloração conspícua avermelhada nos flancos, coxas e tíbias em padrão de barras intercaladas com preto (CARAMASCHI, 2006). Possui ampla distribuição associada às formações abertas do Bioma Cerrado. É relativamente abundante, podendo ser encontrada mesmo em áreas alteradas (COSTA et al., 2010; DIAS et al., 2014) e vocaliza em arbustos e gramíneas às margens de poças naturais ou artificiais e brejos durante os meses de outubro a março (FREITAS et al., 2008; COSTA et al., 2010). Indivíduos de *P. azureus* são territorialistas e defendem os territórios utilizando cantos agressivos e embates corporais (COSTA et al., 2010; HAGA et al., 2017).

Área de Estudo

Foram estudadas duas populações de *P. azureus* encontradas em poças artificiais situadas em (1) uma área de cerrado degradado na Fazenda Água Limpa (FAL) da Universidade de Brasília (47° 56' 46,30" O; 15° 58' 35,11" S), e (2) em uma nascente situada na região do Córrego do Urubú, Brasília-DF (47° 51' 40" O; 15° 41' 52,47" S).

A FAL possui aproximadamente 4.500 hectares de cerrado, estando inserida na Área de Proteção Ambiental (APA) Gama Cabeça de Veado e a Área de Relevante Interesse Ecológico (ARIE) Capetinga/Taquara, situada no Distrito Federal e distante apenas 28 quilômetros do centro de Brasília. A poça situada na FAL possui aproximadamente 600m² e a vegetação predominante em seu entorno é de gramíneas (*Bracchiaria* sp. e Cyperaceae), seguida por pequenos arbustos pertencentes às Famílias Solanaceae, Melastomataceae, Malvaceae e Fabaceae.

A área do Córrego do Urubu faz parte do Núcleo Rural Córrego do Urubu, pertencente à Região Administrativa do Lago Norte – RA XVIII, situada aproximadamente a 12 km do centro de Brasília, constituída principalmente por chácaras. A poça nessa área possui aproximadamente 300m² e a vegetação marginal predominante é composta por arbustos da Família Melastomataceae, Malvaceae e Fabaceae, bambus e gramíneas, em sua maioria (*Bracchiaria* sp.).

Amostragem

As amostragens consistiram na busca ativa por indivíduos machos e fêmeas isolados e casais em amplexo de *P. azureus*, com a utilização de lanternas de luz noturna (infravermelho), para evitar interferências nos padrões de atividade dos

indivíduos (BUCHANAN, 1993). As visitas aos sítios amostrais foram realizadas nos horários de atividade da espécie (20:00 h – 05:00 h), três dias por semana, intercalando as visitas entre as localidades FAL e Urubu, nos seguinte períodos: fevereiro de 2014; novembro de 2014 a fevereiro de 2015; dezembro de 2015 a março de 2016; e dezembro de 2016. Essas amostragens compreenderam dois períodos reprodutivos completos, além de algumas observações mais restritas em 2014 e 2016.

Foram gravadas as vocalizações dos machos territoriais com gravador digital portátil Marantz PMD 660, em razão de amostragem de 48 kHz e resolução de amplitude de 16 bits, e microfone direcional Senheisser ME-67. Ao final de cada gravação os animais foram capturados e imagens fotográficas da região lateral (flanco) direita e dorsal dos sapos foram registradas com câmera digital Cannon (modelo PowerShot ELPH 110 HS) contra uma régua, para servir de escala na análise dos padrões de manchas. Em seguida, os indivíduos foram pesados com a utilização de balanças de precisão do tipo Pesola e tomadas as medidas do comprimento rostro-uróstilo (CRU) com paquímetro milimétrico.

As medidas de reflectância (RE) foram tomadas com o auxílio de um espectrofotômetro Ocean Optics USB4000 e uma fonte de luz de xenônio pulsante PX-2 (Ocean Optics, Dunedin, Florida), que fornece iluminação no espectro ultra-violeta, infra-vermelho e visível para humanos (300-900nm). Um segurador de fibra óptica, em alumínio anodizado, com ângulo de 45° foi utilizado para (1) reduzir brilho e reflexão especular, (2) eliminar luz do ambiente, e (3) padronizar a distância de 2 mm entre a sonda e pele, e uma área de varredura em 2 mm de diâmetro (SZTATECSNY et al., 2010). Um branco puro WS-1 (Ocean Optics) foi utilizado para calibrar o espectrofotômetro entre cada medição. Selecionei uma área situada na região central no dorso e pontos com maior área vermelha no flanco direito para a amostragem, por serem regiões do corpo com coloração mais contrastante e mais visível para conspecíficos. Para fins da análise, foram usadas as médias de três medidas repetidas de cada uma dessas regiões escaneadas.

Todos os indivíduos foram marcados utilizando etiquetas fluorescentes (ALPHA Tags) e soltos nos seus respectivos locais de captura. As localidades do registro de cada indivíduo foram registradas com a utilização de Sistema de Posicionamento Global (GPS Garmin) e sinalizadas no campo com fitas coloridas.

Análise de Dados

Os dados acústicos foram analisados com o programa RAVEN 1.4 (BIOACUSTIC RESEARCH PROGRAM, 2011) e os parâmetros para gerar os espectrogramas foram: janela tipo = “*Hann*”, pontos de resolução (FFT) = 256, filtro de comprimento de onda (3db) = 270 Hz e tamanho (DFT) = 256 amostras. As variáveis analisadas foram: duração do canto, número de pulsos por nota, frequência dominante, frequência máxima e frequência mínima, amplitude de frequência (freq. max. – freq. min.), frequência dominante do primeiro pulso e do último pulso e a modulação na frequência, calculada pela diferença entre a frequência dominante do último pulso e a frequência dominante do primeiro pulso, conforme KÖHLER e colaboradores (2017). As fotografias do padrão de manchas no flanco (PMF) foram analisadas utilizando o programa ImageJ e foram extraídas medidas da razão da cor vermelha com relação à área total do flanco ($\frac{\text{área vermelha}}{\text{área total}}$), razão da cor preta sobre a área total ($\frac{\text{área preto}}{\text{área total}}$) e razão do sinal ($\frac{\text{área vermelha}}{\text{área preto}}$). As análises de reflectância (RE) foram realizadas utilizando o pacote PAVO no programa estatístico R e foram tomadas medidas das variáveis cromáticas, como: saturação do croma (S8), matiz (H3), saturação na faixa que compreende pigmentos carotenoides (S9) (somente para região do flanco) e saturação do ultravioleta (UV) (somente dorso), e variável acromática: Brilho (B2) (MAIA et al., 2013).

Os procedimentos estatísticos e testes de hipóteses foram realizados separadamente para cada um dos conjuntos de dados que compreendem as modalidades visual (PMF e RE) e acústica, devido ao número de amostras serem diferentes entre as modalidades.

Procedimentos Estatísticos

Todos os dados foram testados quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e heterocedasticidade (teste de Bartlett) antes das análises estatísticas e quando necessário foram empregados modelos matemáticos para corrigir possíveis desvios de distribuição. Os “outliers” detectados foram excluídos das análises.

As características de canto e cor que podem ser importantes na preferência das fêmeas foram averiguadas levando-se em consideração quais as diferenças entre os machos encontrados pareados e não-pareados (MORRIS, 1989; MORRISON et al.,

2001; PENG et al., 2013). Primeiramente, utilizei uma Análise de Componentes Principais (PCA) e uma matriz de correlação, para reduzir o número de variáveis explicativas pertencentes às modalidades visual e acústica em eixos canônicos, ou componentes principais independentes, que maximizam a variação dos dados e eliminam as correlações entre as variáveis independentes (QUINN e KEOUGH, 2002). Em seguida, foram elaborados Modelos Lineares Generalizados com distribuição binomial do erro, também chamada de Regressão Logística Binária, para avaliar a relação entre as variáveis explicativas (componentes principais das variáveis de PMF, RE e canto) e a variável resposta (machos pareados ou não-pareados), sendo as variáveis de localidade e índice de massa corporal (SMI: ver abaixo) utilizadas como co-variáveis. A adequação do modelo logístico foi verificada através do teste de Qui-quadrado (X^2) de Wald. O valor crítico para determinar a significância estatística dos modelos foi definido como $P < 0,05$.

O índice de massa corporal foi calculado utilizando o método de PEIG e GREEN (2009), conhecido como “Scaled Mass Index” (SMI) e utilizado em estudos de aptidão individual de répteis e anfíbios em áreas alteradas (SASAKI et al, 2016). Esse índice é computado de acordo com a formula abaixo:

$$SMI = Pi \left[\frac{C_0}{C_i} \right]^{bSMA}$$

Onde P e C são medidas de peso e comprimento do corpo do indivíduo i , respectivamente; C_0 é o valor da média aritmética do comprimento da população estudada; $bSMA$ é o expoente escalonar calculado pela regressão SMA (Eixo Maior Padronizado) de P em C , ou indiretamente dividindo a inclinação da reta da regressão de P e C , pelo coeficiente r da correlação de Pearson (PEIG e GREEN, 2009).

Para testar se existe relação entre SMI e variáveis das modalidades acústica e visual foram realizadas regressões simples entre SMI e valores dos eixos canônicos, resultado da PCA, separadamente para cada uma das modalidades visual e acústica.

Por fim, a relação entre as variáveis de coloração e duração do canto foi avaliada por meio de um modelo linear generalizado (GLM) utilizando os auto-vetores da PCA. A significância do modelo foi testada com teste de Qui-quadrado (X^2) de Wald. O valor crítico para determinar a significância estatística dos modelos foi definido como $P < 0,05$.

Todas as análises estatísticas foram conduzidas com o programa estatístico R versão 0.97.551 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011)

RESULTADOS

Durante o período de amostragem foram capturados 137 indivíduos de *P. azureus*, porém cinco machos apresentaram valores extremos (“outliers”) e foram excluídos das análises. Dentre indivíduos capturados, 112 eram machos e 25 eram fêmeas, representando uma razão sexual de pouco mais que 4 machos para 1 fêmea (4:1). Dentre os machos capturados, 18 se encontravam em cópula e 94 não foram vistos copulando. Cópulas ocorrem sempre em noites de chuvas, ou logo após fortes chuvas. Os mesmos machos foram encontrados defendendo territórios reprodutivos por mais de uma estação reprodutiva. Fêmeas não-pareadas foram encontradas em folhas de arbustos marginais às poças, na posição de postura de ovos, em uma distância de $2,1 \pm 7,3$ (0,3 – 2,3; N=7) metros do indivíduo macho mais próximo em atividade vocal. Algumas fêmeas foram observadas passando de poleiro em poleiro e de arbusto em arbusto, dobrando folhas como se estivessem “testando” a dureza das folhas nos territórios dos machos (N=7, 42%). Esse comportamento pode determinar os tipos de folhas e arbustos que podem influenciar a escolha de fêmeas por sítios de ovoposição. Ademais, a recaptura de algumas fêmeas (N=4) mostra a fidelidade de sítio reprodutivo (N=2) e que podem ter pelo menos dois eventos de ovipostura por estação reprodutiva (N=2).

Um total de 523 cantos de 49 indivíduos (± 11 cantos/indivíduo) foram gravados durante o estudo, sendo 13 pertencentes a machos encontrados em amplexo e 36 de indivíduos não-pareados (Tabela 1). A modulação de frequência (FM) foi observada no

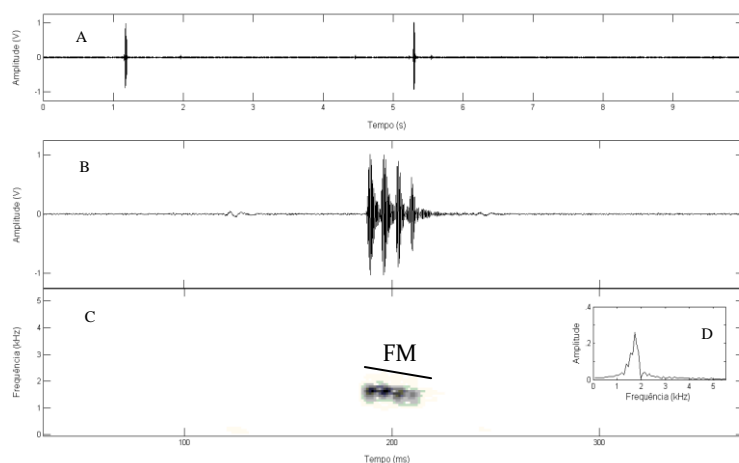


Figura 1. Sonograma do canto de anúncio de *Pithecopus azureus*. (A) Oscilograma, (B) Oscilograma do canto, (C) espectrograma e (D) espectro de potência.

canto de anúncio, descrita e utilizada nas análises (Figura 1).

Para as análises dos sinais visuais, foram tomadas medidas do padrão de flanco de 110 indivíduos, dos quais 18 eram machos pareados e 92 eram machos não-pareados. Os dados de reflectância foram extraídos de sete indivíduos machos em amplexo e 29 não-pareados, totalizando 36 machos analisados. Por fim, a análise da relação entre a duração do canto e reflectância foi realizada com amostras de 16 indivíduos machos que foram ao mesmo tempo gravados e para os quais foi possível obter os dados de cor.

Sinal Visual

Padrão de Manchas no Flanco

A PCA mostra a correlação entre as variáveis razão de vermelho e razão do sinal com o componente principal 1 e que retêm 78% da variação dos dados. O componente principal 2 retêm 20% da variação dos dados e mostra a correlação entre a razão de vermelho e a razão de preto nos flancos (Tabela 2).

Tabela 2. Valores dos componentes principais das variáveis de padrão de manchas no flanco.

Variáveis	Auto-Vetores	
	Componente 1	Componente 2
Razão do sinal	-0.645	-
Razão de vermelho	-0.519	0.766
Razão de preto	0.561	0.64
Varição	78%	20%

O modelo da regressão logística ordinal utilizando os componentes principais do padrão de manchas do flanco de *P. azureus* + Localidade + SMI, não mostrou diferença entre machos pareados e não-pareados e entre as localidades coletadas (FAL e Urubu) (Localidade: Wald $X^2 = 0,0169$, $df = 1$, $N = 110$, $P = 0,896$). Fêmeas de *P. azureus* não parecem exercer nenhum tipo de preferência pelos padrões de manchas no flanco de machos, uma vez que não existe diferença significativa entre machos pareados e não-pareados nos componentes principais 1 e 2 (Componente 1: Wald $X^2 = 0,535$, $df = 1$, $N = 110$, $P = 0,464$; Componente 2: Wald $X^2 = 0,1804$, $df = 1$, $N = 110$, $P = 0,671$). Além disso, machos encontrados pareados possuem índices corporais menores que machos não pareados (SMI: Wald $X^2 = 5,6082$, $df = 1$, $N = 110$, $P < 0,01$).

De acordo com a regressão linear, não existe relação entre as variáveis dos componentes principais do padrão de manchas no flanco e massa corporal (SMI) em *P.*

azureus (Componente 1: $R^2 = -0.0081$, $t_{1,108} = 0.35$, $P = 0.72$; Componente 2: $R^2 = -0.0079$, $t_{1,108} = -0.381$ $P = 0.70$).

Reflectância Espectral

O modelo para testar as diferenças entre machos pareados e não-pareados utilizando os valores da PCA das variáveis de reflectância de *P. azureus* + localidade, mostrou que existe diferença entre as localidades FAL e URUBU (Localidade: Wald $X^2 = 8,9484$, $df = 1$, $N = 36$, $P < 0,005$) e para tratar a não independência dos dados, a localidade Urubu, que possui apenas 1 registro de macho pareado, foi retirada do modelo.

De acordo com o resultado da PCA para a localidade FAL, o componente principal 1, que explica 34% da variação dos dados, é representado principalmente pelas variáveis de reflectância do dorso, com valores positivos para o croma (S8_dorso) e matiz (H1_dorso), e com valores negativos para o ultravioleta (UV) e brilho (B2_dorso). O componente 2 explica principalmente a correlação e valores negativos do brilho (B2_flanco) e matiz (H1_flanco) no flanco e matiz no dorso (H1_dorso), e compreende 19% da variação dos dados. O componente principal 3, representado pelas variáveis croma (S8_flanco) e matiz (H1_flanco) no flanco, explicam 17% da variação dos dados. Finalmente, o componente 4, com 11% da variação, é correlacionado com a saturação no espectro do carotenoide (S9_flanco), com valor negativo, e matiz e UV do dorso (H1_dorso e UV_dorso) com valores positivos (Tabela 3).

Tabela 3. Valores dos componentes principais das variáveis de reflectância espectral do dorso e flanco.

Variáveis	Auto-Vetores			
	Componente 1	Componente 2	Componente 3	Componente 4
Brilho flanco	-	-0.728	-0.253	-
Croma flanco	-	-0.22	-0.733	-0.25
Croma carotenoide	-0.262	-0.259	0.302	-0.611
Matiz flanco	-0.192	-0.414	0.441	-0.166
UV dorso	-0.467	-0.113	0.156	0.432
Croma dorso	0.562	-	-0.275	-0.271
Brilho dorso	-0.466	-	-	-
Matiz dorso	0.371	-0.399	0.113	0.51
Varição	34%	19%	17%	11%

Conforme o resultado da regressão logística ordinal, o modelo não explica as diferenças entre os machos pareados e não-pareados com os componentes principais 1,

2 e 3 (Componente 1: Wald $X^2 = 1,5638$, $df = 1$, $N = 18$, $P = 0,21$; Componente 2: Wald $X^2 = ,2281$, $df = 1$, $N = 18$, $P = 0,22$; Componente 3: Wald $X^2 = 2,7444$, $df = 1$, $N = 18$, $P = 0,09$). O modelo que melhor explica as diferenças nas variáveis de reflectância entre machos pareados e não-pareados foi o componente principal 4 (Componente 4: Wald $X^2 = 7,8515$, $df = 1$, $N = 19$, $P \ll 0,01$), representado pelas variáveis com valores negativos da saturação do carotenoide (S9_flanco) e valores positivos de matiz e UV no dorso. Portanto, as fêmeas de *P. azureus* em amplexo foram encontradas com machos que possuem maiores valores de matiz e UV no dorso e menores valores da saturação na faixa do carotenoide nos flancos (S9) (Figura 2).

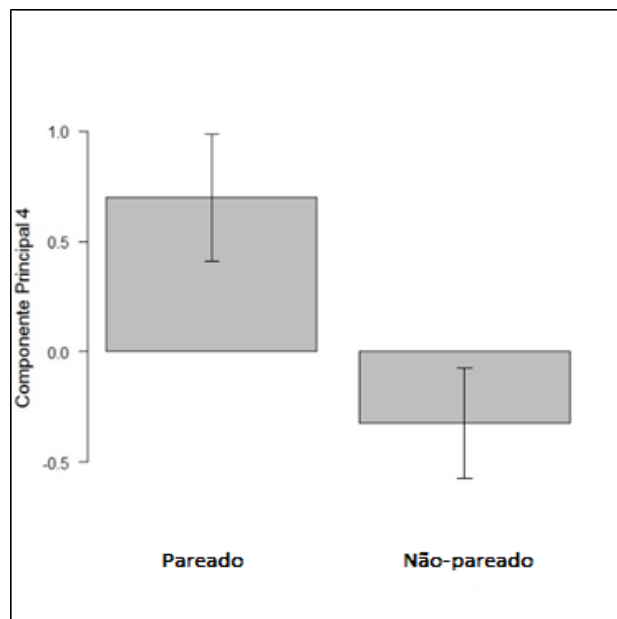


Figura 1. Diferença entre machos pareados e não-pareados no Componente Principal 4, resultado da PCA das variáveis de reflectância.

Não encontramos relação significativa na coloração de *P. azureus* com o índice de massa corporal (SMI). No entanto, o componente principal 2 apresentou valores marginalmente significativos (Componente 2: $R^2 = 2,118$, $t_{4,14} = 2,118$, $P = 0,05$). Esse componente 2 descreve os valores negativos para todas as variáveis de reflectância, exceto as variáveis do croma e brilho no dorso (S8_dorso e B2_dorso) (Tabela 2). As variáveis que mais contribuem com o eixo-canônico 2 são brilho e matiz do flanco (B2_flanco e H3_flanco), seguidas por matiz do dorso (H3_dorso) e reflectância da faixa que compreende carotenoide (S9). Portanto, animais com melhor índice de massa corpórea (SMI) podem apresentar maiores valores dessas variáveis de reflectância, principalmente, brilho e matiz no flanco, seguida por matiz no dorso, variável apontada

pelo modelo RLO responsável por explicar diferenças entre machos pareados e não-pareados (Figura 3).

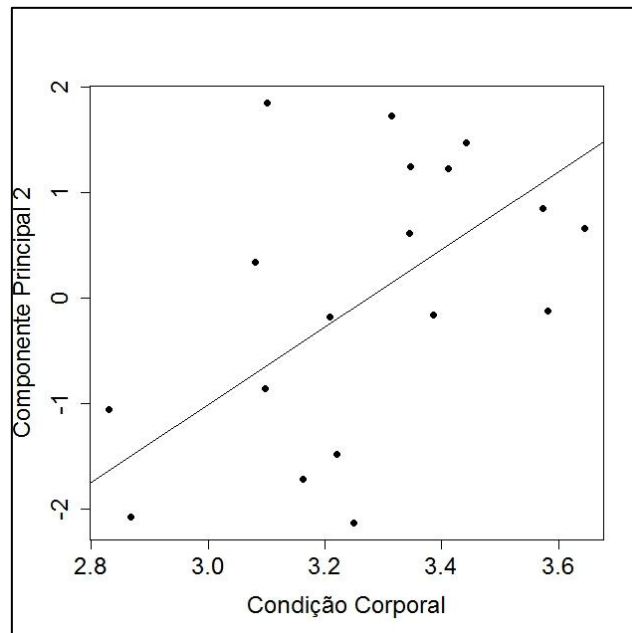


Figura 3. Diferença entre machos pareados e não-pareados no Componente Principal 2, resultado da PCA das variáveis de reflectância.

Sinal Acústico

Os auto-vetores, resultado das variáveis acústicas em *P. azureus*, mostram que o componente principal 1, com 40% da variação dos dados, corresponde à correlação entre as variáveis espectrais (frequência máxima, frequência do último pulso, frequência dominante e frequência do primeiro pulso) apresentando valores negativos, e a relação das variáveis temporais (tempo do canto e número de pulsos por canto) com valores positivos (Tabela 4). Os componentes principais 2 e 3 explicam 20% e 16% da variação, respectivamente. O componente 2 é representado, principalmente, pelas variáveis frequência mínima, com valores negativos, e amplitude de frequência, com valores positivos. O componente 3 é explicado pela modulação de frequência (FM) e valor negativo para frequência dominante do primeiro pulso.

Tabela 4. Análise de componentes principais das variáveis do canto de anúncio.

Variáveis	Auto-Vetores			
	Componente 1	Componente 2	Componente 3	Componente 4
Frequência máxima	-0.433	0.269	-0.217	-0.141
Frequência dominante	-0.382	-0.239	-	-0.319
Frequência mínima	-0.128	-0.607	0.217	-
Amplitude de frequência	-0.221	0.562	-0.284	-
Duração do canto	0.392	-	-0.239	-0.523
Pulso/canto	0.38	-0.117	-0.211	-0.547
Freq. dom. no 1º pulso	-0.36	-0.303	-0.41	-
Freq. dom. no último pulso	-0.417	-	0.276	-0.428
Modulação de Frequência	-	0.282	0.69	-0.329
Varição	40%	20%	16%	10%

De acordo com o modelo logístico ordinal, não existe diferença significativa nos componentes principais da PCA entre machos de *P. azureus* pareados e não-pareados (Componente 1: Wald $X^2 = 0,2222$, $df = 1$, $N = 47$, $P = 0,63$; Componente 2: Wald $X^2 = 0,0718$, $df = 1$, $N = 47$, $P = 0,78$; Componente 3: Wald $X^2 = 3,4282$, $df = 1$, $N = 47$, $P = 0,06$; Componente 4: Wald $X^2 = 0,3621$, $df = 1$, $N = 47$, $P = 0,54$). Embora o componente 3 não seja significativo ($P = 0,06$) é possível que exista uma tendência nas diferenças entre machos de *P. azureus* encontrados em amplexo e aqueles não pareados na modulação de frequência (FM) e na frequência dominante do primeiro pulso. Indivíduos acasalados parecem exibir uma tendência de possuírem cantos com menor modulação na frequência e frequência mais aguda no primeiro pulso do canto (Figura 4). A única diferença estatística significativa encontrada no modelo entre machos pareados e não-pareados é a variável de índice de massa corporal (SMI: Wald $X^2 = 7,3782$, $df = 1$, $N = 47$, $P < 0,01$), onde machos acasalados exibem menor SMI.

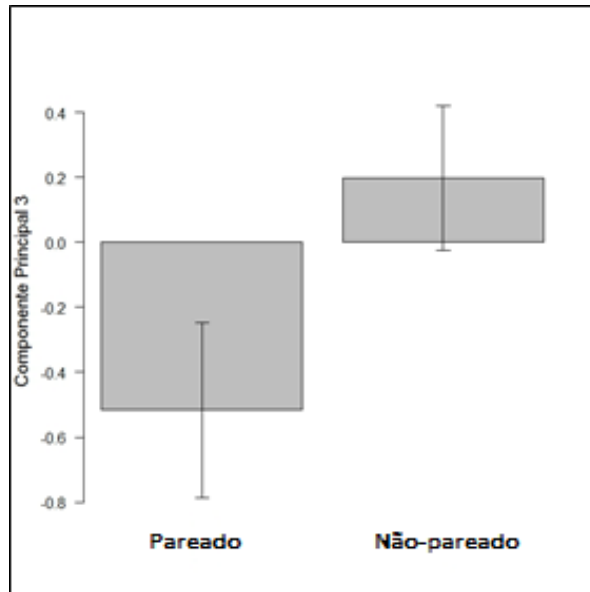


Figura 4. Diferença entre machos pareados e não-pareados no Componente Principal 3, resultado da PCA das variáveis acústicas.

Encontramos que alguns aspectos da modalidade acústica estão associados com o índice de massa corporal em *P. azurea* (Figura 5). A variação do componente principal 1, que descreve as variáveis espectrais com valores negativos e valores positivos para as variáveis temporais, está relacionada com SMI (Componente 1: $R^2 = 0,2521$, $t_{4,42} = 3,227$, $P < 0.005$). Assim, temos que machos com maior índice de massa corporal (SMI) possuem cantos mais longos e com maior número de pulsos e machos com menor índice de condição corporal (SMI) possuem cantos mais graves (Tabela 4).

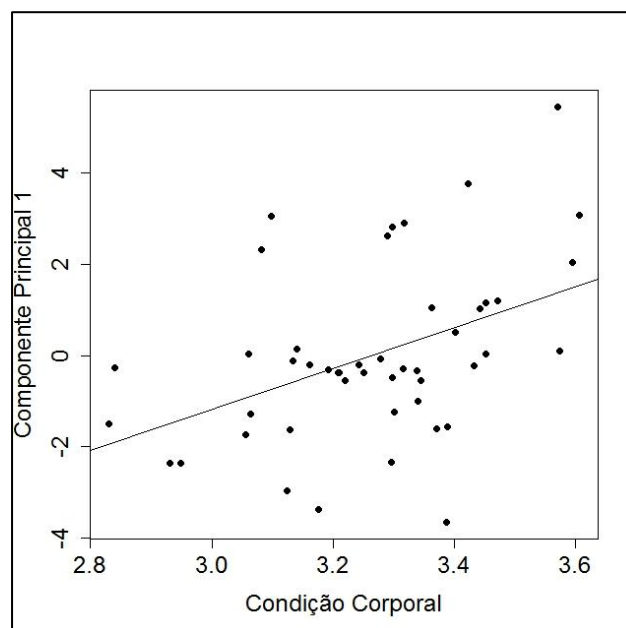


Figura 5. Relação entre a massa corporal (SMI) e o componente principal 1, resultado da ACP das variáveis dos sinais acústicos.

Tabela 1. Estatística descritiva dos sinais acústicos e visuais em machos de *P. azureus* (pareados e não-pareados) e a valores da Regressão Logística Ordinal e Regressão Linear dos Componentes Principais de ACP.

Sinal Visual	Média ± DP	CV	Média ± DP	Média ± DP	Regressão Logística Ordinal		
	Total (N=110)		♂ Pareados (N=18)	♂ Não-pareados (N=92)	Auto-vetores	Wald X^2	P
Manchas no Flanco							
Razão do sinal	1.86 ± 0.53	28.2	1,97 ± 0,47	1,86 ± 0,42	Componente 1	0,733	0,46
Razão de vermelho	0.45 ± 0.06	13.2	0,45 ± 0,04	0,44 ± 0,05	Componente 2	0,426	0,67
Razão de preto	0.25 ± 0.05	20.0	0,24 ± 0,04	0,25 ± 0,05	Localidade	-0.13	0,89
SMI	3.68 ± 0.94	6.2	3.15 ± 0.21	3.28 ± 0.20	SMI	2.311	0,02*
Reflec. Espectrométrica	Total (N=36)		♂ Pareados (N=7)	♂ Não-pareados (N=32)			
Matiz dorso (H1)	584.1 ± 111.8	19.2	655.2 ± 122.8	566.8 ± 104.1	Componente 1	1.5638	0.21
Brilho dorso (B2)	528.6 ± 103.4	19.6	506.7 ± 82.4	533.9 ± 108.5	Componente 2	1.4526	0.22
Saturação dorso (S8)	1.90 ± 0.38	19.9	1.95 ± 0.34	1.89 ± 0.39	Componente 3	2.7444	0.09
Saturação do UV (UV)	0.19 ± 0.04	18.8	0.20 ± 0.03	0.19 ± 0.04	Componente 4	7.8515	0.005**
Matiz flanco (H1)	658.3 ± 65.1	9.9	683.2 ± 42	652.3 ± 68.8	SMI	1.3226	0.25
Brilho flanco (B2)	787.2 ± 233.1	29.6	791.6 ± 268.4	786.1 ± 229	SMI x Comp. 2	$t = 2.118$	0.05`
Saturação flanco (S8)	2.21 ± 0.31	14.2	2.14 ± 0.34	2.23 ± 0.31			
Saturação Carotenóide (S9)	12.49 ± 43.25	346.3	4.56 ± 7.23	14.4 ± 48			
Sinal Acústico	Total (N=49)		♂ Pareados (N=13)	♂ Não-pareados (N=36)			
Freq. mínima (Hz)	1405 ± 115.3	8.2	1431 ± 68	1390 ± 121	Componente 1	0.2222	0.63
Freq. dominante (Hz)	2135 ± 84.7	4.0	2121 ± 80	2134 ± 85	Componente 2	0.071	0.78
Freq. máxima (Hz)	2657 ± 124.3	4.7	2651 ± 93	2651 ± 129	Componente 3	3.4181	0.06`
Freq. delta	1252 ± 177	14.2	1220 ± 89	1261 ± 199	Componente 4	0.3621	0.54
Tempo (mseg)	0.04 ± 0.01	24.1	0,045 ± 0,008	0,043 ± 0,01	Localidade	0.4342	0.51
Pulso	4.55 ± 0.99	21.7	5 ± 1	4 ± 1	SMI	7.3782	0.006**
Freq. 1º pulso	2202 ± 113.9	5.1	2236 ± 75	2177 ± 112	SMI x Comp. 1	$t = 3.227$	0.002**
Freq. 2º pulso	2022 ± 99.5	4.9	1998 ± 92	2015 ± 92	SMI x Comp. 2	$t = 1.797$	0.07
FM	179.9 ± 100.3	55.7	220.9 ± 83.9	165.1 ± 102.6			

Demandas Conflitantes no Sinal Acústico e Visual em *Pithecopus azureus*

Quando investigado se sinais visuais de reflectância são correlacionados com aspectos temporais do canto, foi encontrado que o tempo possui uma relação negativa significativa com o componente principal 3, que representa 22% da variação dos dados (Componente 3: Wald $X^2 = 5,8215$, $df = 1$, $N = 16$, $P < 0,05$) (Figura 6). Esse componente principal é representado por valores negativos de saturação na faixa do caroteno (S9_flanco), brilho e matiz no dorso (B2_dorso e H3_dorso) e valores positivos para as variáveis croma (S8_flanco), matiz (H3_flanco) e brilho (B2_flanco) no flanco e croma no dorso (Tabela 5). Isso significa que indivíduos de *P. azureus* que produzem cantos longos tem baixos valores de croma, matiz e brilho no flanco, além de menos croma no dorso. Esses mesmos indivíduos possuem valores altos para caroteno, brilho e matiz no dorso. Entretanto, essa análise foi realizada apenas com indivíduos que possuíam dados acústicos e colorimétricos ($N = 16$).

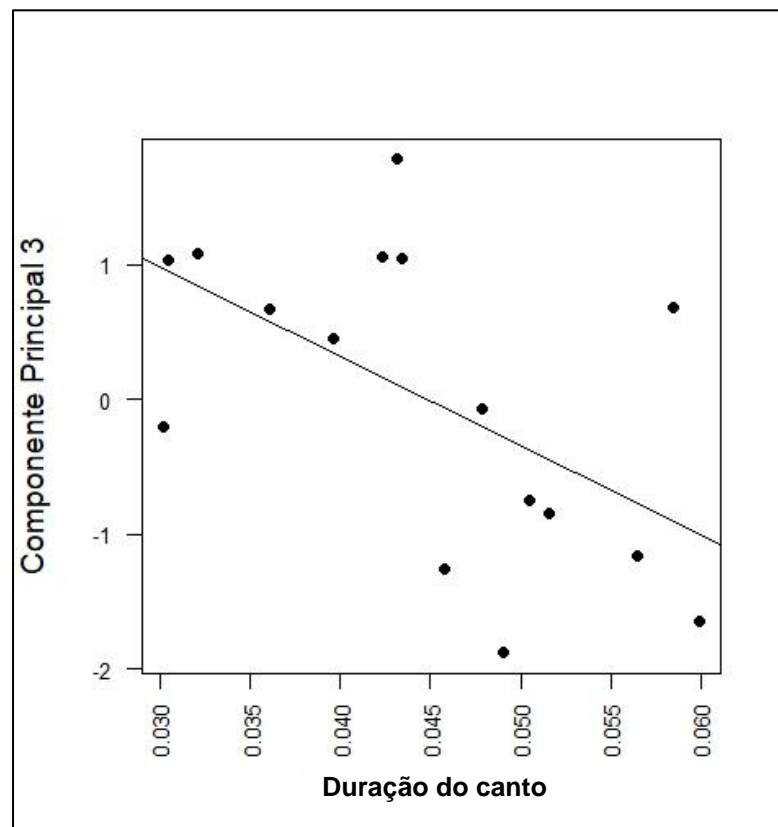


Figura 6. Relação entre a duração do canto de *P. azureus* e o componente principal 3, resultado da PCA das variáveis de reflectância.

Tabela 5. Valores da PCA de reflectância espectrofotométrica para indivíduos machos com vocalizações gravadas (N=16).

Variáveis	Auto-Vetores		
	Componente 1	Componente 2	Componente 3
Brilho flanco	-0.271	-0.153	0.251
Croma flanco	-0.25	0.382	0.594
Croma carotenoide	-	0.103	-0.494
Matiz flanco	-0.447	-	0.276
UV dorso	-0.453	-0.221	-
Croma dorso	-0.455	-0.2	0.399
Brilho dorso	-0.496	0.187	-0.28
Matiz dorso	0.371	-0.673	-0.16
Variacão	34%	22%	15%

DISCUSSÃO

O padrão de manchas nos flancos de *P. azureus* não indica condição corporal dos machos e não difere entre os machos encontrados pareados e não-pareados. Sinais visuais, compostos por manchas, barras longitudinais e transversais e ocelos, com a presença de cores vistosas, desempenham papéis importantes na comunicação em diferentes taxa animais (ver revisão em: OSORIO e VOROBYEV, 2008) e muitas vezes são utilizados em contextos inter-sexuais em peixes (HOUDE, 1987; LYONS et al., 2014), lagartos (LATTANZIO et al., 2014; BASTIAANS et al., 2014) e anfíbios (SUMMERS et al., 1999; TAYLOR et al., 2007; MAAN e CUMMINGS, 2008 ROJAS e ENDLER, 2013). Em experimentos laboratoriais com *Dryophytes squirellus*, fêmeas demonstraram preferências por machos que possuíam linhas labiais e laterais mais largas (TAYLOR et al., 2007). Essas linhas expressam a condição corporal dos machos de *Dryophytes squirellus* e possuem correlação com a quantidade do croma refletido, sugerindo que variáveis da modalidade visual (padrão de manchas e reflectância) compartilham os mesmos mecanismos de controle na espécie (BUCHANAN, 1994).

O padrão de manchas nos flancos em *P. azureus* é sexualmente dimórfico, sendo que machos possuem maior proporção de vermelho do que as fêmeas. No entanto, a falta de correlação entre a área do padrão de manchas e condição corporal indica que essa característica provavelmente não contém nenhuma informação sobre a qualidade

do macho que possa influenciar a preferência pelas fêmeas. É, portanto, razoável sugerir que essas manchas encontradas tanto nos flancos, como coxas, tíbias, mãos e pés de *P. azureus* atuem mais em mecanismos de reconhecimento inter- e intraespecífico, como sugerido para algumas espécies de reprodução explosiva (DE LUNA et al., 2010; SZTATECSNY et al., 2010, SZTATECSNY et al., 2012). Dessa forma, as manchas poderiam ajudar machos territoriais a perceberem e se aproximarem mais rapidamente de uma fêmea no território, diminuindo o risco de um possível macho satélite conseguir o amplexo.

Praticamente todas as variáveis de reflectância do vermelho no flanco demonstram relação com a condição corporal dos machos de *P. azureus*. Estudos mostram que mesmo os anuros de hábitos noturnos são capazes de perceber aspectos cromáticos (matiz e croma) e acromáticos (brilho) de cores (GOMEZ et al., 2009; GOMEZ et al., 2010; RICHARDSON et al., 2010) em condição de baixa luminosidade. Inclusive, fêmeas de *Hyla arborea*, anuros de hábitos noturnos, preferem se acasalar com machos que possuem maiores valores de matiz e brilho na coloração avermelhada dos sacos vocais, coloração dada pela presença de pigmentos carotenoides que honestamente sinalizam qualidade imunológica dos indivíduos (RICHARDSON et al., 2009; GOMEZ et al., 2010). Não se sabe o tipo de pigmento responsável pela coloração do vermelho no flanco de *P. azureus*, mas foi encontrada a maior variação dos dados nessa modalidade visual, principalmente no que se refere à saturação na faixa do caroteno e brilho no flanco.

A variação em características sexuais secundárias de machos é tipicamente relacionada à competição, influenciando tanto o sucesso nas interações entre machos, quanto na atração de fêmeas (ANDERSSON, 1994). Essas variações encontradas nos cantos são classificadas como “dinâmicas” (sensu Gerhardt, 1994) e contém informações honestas geralmente refletidas na preferência das fêmeas (GERHARDT, 1991; WELCH et al., 1998). Apesar de nenhuma das variáveis de reflectância do flanco significarem preferência pelas fêmeas, a saturação do carotenoide e o brilho no flanco podem ser consideradas características dinâmicas, pois apresentaram os maiores valores do coeficiente de variação e, ainda sim, podem gerar informações úteis para comunicação em contextos sociais.

A reflectância do matiz e UV no dorso estão correlacionadas com a condição corporal em *P. azureus* e, mais ainda, machos encontrados pareados possuem maiores

valores de matiz e ultravioleta no dorso do que machos não-pareados. Sabe-se que anfíbios anuros do gênero *Rana* possuem proteínas rodopsinas sensíveis ao espectro do ultravioleta (GOVARDOVSKII e ZUEVA, 1974), cuja função ainda não é muito bem compreendida. As espécies *Rana arvalis* e *R. temporaria* apresentam dicromatismo sexual temporário no espectro do UV, mas nenhuma variável de reflectância indica condição corporal nas duas espécies (RIES et al., 2008). Essas espécies de reprodução explosiva provavelmente utilizam esse sinal como mecanismo de reconhecimento sexual (RIES et al., 2008; SZTATECSNY et al., 2010; SZTATECSNY et al., 2012). Se levarmos em consideração que espécies da Família Phyllomedusidae, conhecidas por refletir o UV, também possuem sensibilidade ao espectro do UV, é possível que a coloração UV seja utilizada em contextos sociais de atração de fêmeas e em contextos interespecíficos, como fuga de predadores através de mimetismo do espectro não-visível (CUMMINGS et al., 2003; TOLEDO e HADDAD, 2009; TOLEDO et al., 2011; ROJAS, 2016).

A vocalização de *P. azureus* já é conhecida na literatura (DE LA RIVA et al., 1995; GUIMARÃES et al., 2001; HAGA et al., 2017) e é caracterizada por uma nota curta pulsada, de frequência grave em banda larga e baixa amplitude. A modulação na frequência (FM) é conhecida apenas para o canto territorial de *P. azureus* (HAGA et al., 2017). Em *P. azureus* as variáveis temporais e espectrais da modalidade acústica estão relacionadas com a condição corporal, com exceção da variável modulação na frequência (FM). Entretanto, FM possui o maior valor do coeficiente de variação, com valores muito maiores do que as próprias variáveis dinâmicas (*sensu* Gerhardt, 1991), como duração do canto e número de pulsos no canto. Tais características são mais atrativas e indicadoras de reservas energéticas (WELLS, 2001) e, geralmente, são aspectos de machos favorecidos por fêmeas em experimentos laboratoriais de *playback* (GERHARDT, 1991; SULLIVAN e HINSHAW, 1992; GERHARDT, 1994; SCHRODE, 2012, GERHARDT, 2005). A variável de modulação de frequência, ainda não descrita para o canto reprodutivo, conhecida apenas para o canto territorial em *P. azureus* (HAGA et al., 2017), pode constituir uma importante fonte de informação ainda não explorada na espécie e até mesmo no gênero *Pithecopus*.

Alguns experimentos laboratoriais de resposta de fêmeas a estímulos acústicos artificiais mostram preferência de fêmeas por variáveis espectrais do canto como, por exemplo, menores frequências dominantes (RYAN, 1985; MORRIS e YOON, 1989;

MORRISON, 2001), mesmo sendo essas variáveis “estáticas” (*sensu* Gerhardt, 1991), com pouca variação e, principalmente, utilizadas no reconhecimento específico (GERHARDT, 1991; GERHARDT e HUBER, 2002; SCRODE et al., 2012). A modulação na frequência (FM) em anuros geralmente é usada no reconhecimento específico e maximiza a informação sobre a localidade do indivíduo, mas não se conhece ao certo se é capaz de oferecer alguma vantagem seletiva, embora algumas frequências de ondas envolvidas na modulação possam viajar por maiores distâncias e atrair fêmeas mais afastadas (RYAN, 1985). Em *P. azureus*, sugerimos, pela primeira vez, que a variável espectral da modulação de frequência (FM), principalmente por apresentar o maior coeficiente de variação, possa influenciar a preferência em fêmeas e deve ser testada em experimentos laboratoriais fonotáticos.

Os resultados deste estudo revelam a relação entre a modalidade acústica (duração do canto) e modalidade visual (variáveis de coloração), e que essas são associadas com a condição corporal (SMI) em *P. azureus*. Isso sugere que as modalidades acústica e visual em *P. azureus* possam estar atuando de forma redundante (*back-up message*) (CANDOLIN, 2003; PARTAN e MARLER, 2005). Na hipótese de mensagens redundantes, fêmeas aumentam sua probabilidade de encontrar melhores parceiros, utilizando diferentes modalidades de comunicação que indicam qualidade corporal e constituem fontes alternativas de informação em ambientes onde diferentes ruídos podem mascarar e atrapalhar a detecção e reconhecimento de um determinado sinal, tornando outros componentes mais perceptíveis (HÖDL e AMÉZQUITA, 2001; VÁSQUEZ e PFENNIG, 2007). A duração da nota está correlacionada negativamente com variáveis de matiz, croma e brilho do vermelho nos flancos. Esse resultado sugere a existência de demandas conflitantes na alocação de recursos para a produção de cantos mais custosos, com maior duração de tempo, em detrimento da coloração vermelha no flanco. É possível que machos que consigam emitir cantos com maior duração e, ao mesmo tempo, manter altos valores de reflectância no flanco possam ser favorecidos pelas fêmeas. Contudo, a preferência de fêmeas por propriedades multimodais deve ser testada em experimentos laboratoriais controlando para ambos os estímulos acústico e visual.

Em *P. azureus*, machos pareados possuíam menores valores de índice de condição corporal (SMI) do que machos não-pareados. Portanto, fêmeas parecem preferir machos menores e com menor SMI. Entretanto, são comuns os estudos que

mostram a preferência de fêmeas por machos maiores e com melhor índice corporal, como evidência da hipótese do acasalamento seletivo (MORRIS, 1989; SULLIVAN e HINSHAW, 1992; GERHARDT, 2005). Possíveis explicações para esse resultado em *P. azureus* parecem ocorrer nas espécies *Dryopsophus chloris* e *D. xathomerus*, pertencentes à família irmã de Phyllomedusidae (MORRISON et al, 2001). Assim como em *D. chloris* e *D. xanthomerus*, *Pithecopus azureus* possui uma relação entre SMI e frequência do canto. A produção de cantos de anúncio com frequências mais graves é possível para machos maiores, porém com um maior custo (PRESTWICH, 1994). Dessa forma, supõe-se que machos menores conseguem economizar energia produzindo frequências mais agudas e, com isso, permanecem durante mais tempo defendendo seus territórios, aumentando suas chances de acasalamento (BERTRAN et al, 1996). Portanto, a hipótese de permanência no coro (*chorus attendance*) pode parecer uma boa explicação para o sucesso reprodutivo de indivíduos menores, com menor SMI. No entanto, deve ser testada.

A outra possível explicação é que essa característica pode não ser tão importante para escolha de parceiros na espécie, simplesmente por não possuir uma variação muito grande entre indivíduos, ao contrário das características visuais e algumas acústicas que refletem uma variabilidade maior.

CONCLUSÃO

Esse estudo pode ser considerado pioneiro na utilização de cores e padrões de manchas indicando condição corporal e possível preferência de fêmeas pela coloração aposemática na Família Phyllomedusidae. Além disso, características de coloração avermelhada no flanco e coloração esverdeada no dorso podem exercer algum papel na preferência das fêmeas, podendo atuar em contextos intersexuais e sofrerem pressões de seleção sexual e não somente pressão de seleção natural (TOLEDO e HADDAD, 2009; ROJAS, 2016).

Muitos anuros utilizam o saco vocal para aumentar a conspicuidade em ambientes onde há baixa razão do sinal/ruído e estudos mostram que a modalidade de comunicação motora do inflar e desinflar do saco vocal e a sincronia com o sinal acústico tornam machos mais detectáveis pelas fêmeas (TAYLOR et al., 2008; TAYLOR et al., 2011). Machos de *P. azureus* vocalizam expondo a coloração conspícua presente nos flancos, coxas e tíbias e adotam posturas que tornam essa

coloração ainda mais conspícua e contrastante com o plano de fundo. Portanto, a coloração contribui para um sinal bimodal, pois ocorre simultaneamente ao canto, ou, simplesmente, como um canal de comunicação visual por si só. *Pithecopus azureus* não possui sacos vocais muito conspícuos e, ao invés, enquanto vocaliza, passa a maior parte do tempo locomovendo-se entre os galhos dos arbustos, patrulhando seu território e expondo as partes conspícuas do flanco.

Existem relatos de comportamentos elaborados não estereotipados em *P. azureus* que envolvem movimentos de mãos (HÖDL e AMÉZQUITA 2001) e engodo pedal, ou movimentos bruscos com as pernas (“*pedal luring*” e “*leg kicking*”), assim como para outros membros da Família Phyllomedusidae (*Phyllomedusa sauvagi*, *P. burmeisteri* e *P. boliviana*) (HÖDL e AMÉZQUITA 2001; BERTOLUCI, 2002; ABRUNHOSA e WOGEL, 2004; KÖHLER, 2008), mas não observados no presente estudo. Quando ameaçadas, *P. azureus* cessam as vocalizações e imediatamente escondem as partes conspícuas do flanco e permanecem imóveis por algum tempo (obs. pessoal). Em casos extremos, assumem a postura de imobilidade ou encolhimento (TOLEDO et al., 2011). O conjunto de evidências aqui expostas sugere que a coloração dorsal esverdeada e a coloração vermelha nos flancos, atuam como outro canal de comunicação visual, que fornece informação sobre a qualidade corporal dos machos e podem ser acessadas tanto em contextos intra-sexuais, quanto pelas fêmeas na escolha de melhores parceiros reprodutivos.

Ademais, pela primeira vez a variação encontrada na modulação de frequência aparece como possível variável espectral do canto, podendo influenciar as preferências de fêmeas. Contudo, é necessário a elaboração de experimentos de resposta de fêmeas em laboratório testando a preferência por machos que apresentam menor modulação na frequência no canto.

Na última década, estudos em comunicação visual mostram que as qualidades do canto podem mudar drasticamente quando uma outra modalidade de comunicação está disponível e que, além disso, existe uma variação individual na maneira em que fêmeas priorizam as múltiplas informações (RICHARDSON et al., 2010), tornando os estudos de seleção sexual com múltiplas modalidades mais difíceis e complexos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRUNHOSA, P. A. e WOGEL, H. 2004. Breeding behavior of the leaf- frog *Phyllomedusa burmeisteri* (Anura: Hylidae). *Amphibia-Reptilia* 25: 125-135.

ÁLVARES, G. F. A. 2009. Taxonomia, distribuição geográfica potencial e conservação das espécies de *Phyllomedusa* do grupo *hypochondrialis*. Dissertação de Mestrado em Engenharia Florestal, Publicação PGEFL – 116/09, Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, DF, 95 pags.

AMÉZQUITA, A. e HÖDL, W. 2004. How, when and where to perform visual displays: the case of the Amazonian frog, *Hyla parviceps*. *Herpetologica* 60: 420-429.

ANDERSON, M. 1994. Sexual Selection in Animals. Monographs in Behavior and Ecology. Editora Princeton University. New Jersey, USA. 601 pags.

BADYAEV, A.V., HILL, G. E. e WECKWORTH, B. V. 2002. Species divergence in sexually selected traits: Increase in song elaboration is related to decrease in plumage ornamentation in finches. *Evolution* 56: 412-419

BASTIAANS, M. J., MORINAGA, G., GAYTÁN, J. G. C., MARSHALL, J. C., BANE, B., DE LA CRUZ, F. M. e SINERVO, B. 2014. Female preference for sympatric vs. allopatric male throat color morphs in the mesquite lizard (*Sceloporus grammicus*) species complex. *Plos One* 9: 44-48.

BEE, M.A. e GERHARDT, C. H. 2001. Neighbour-stranger discrimination by territorial male bullfrogs (*Rana catesbeiana*): I. Acoustic basis. *Animal Behaviour* 62: 1129-1140.

BERTOLUCU, J. 2002. Pedal luring in the leaf-frog *Phyllomedusa burmeisteri* (Anura, Hylidae, Phyllomedusinae). *Phyllomedusa* 1: 93-95.

BERTRAM, S., BERRILL, M. e NOL, E. 1996. Male mating success and variation in chorus attendance within and among breeding seasons in the Gray Treefrog (*Hyla versicolor*). *Copeia* 3: 729-734.

BIOACOUSTICS RESEARCH PROGRAM 2011. Raven Pro: Interactive Sound Analysis Software (Version 1.4) [Computer software]. Ithaca, NY: The Cornell Lab of Ornithology. Available from <http://www.birds.cornell.edu/raven>.

- BUCHANAN, B. W. 1994. Sexual dimorphism in *Hyla squirella*: chromatic and pattern variation between the sexes. *Copeia* 1994: 797-802.
- BUCHANAN, B. W. 1993. Effect of enhanced lighting on the behaviour of nocturnal frogs. *Animal Behaviour* 45: 893-899.
- BOSCH, J. e MÁRQUEZ, R. 2000. Acoustical interference in the advertisement calls of the midwife toads (*Alytes obstetricans* and *Alytes cisternassi*). *Behaviour* 137: 249-263.
- BOSCH, J e DE LA RIVA, I. 2004. Are frog calls modulated by the environment? An analysis with anuran species from Bolivia. *Canadian Journal of Zoology* 82: 880-888.
- BLAIR, A. P. 1941. Isolating mechanism in tree frogs. *Proceedings of the National Academy of Science* 27: 14-17.
- CALDWELL, M. S., JOHNSTON, G. R., MCDANIEL, J. G., WARKENTIN, K. M. 2010. Vibrational signaling in the agonistic interactions of red-eyed treefrogs. *Current Biology* 20:1012-1017.
- CÂNDIDO, C. E. R. 2013. Biologia reprodutiva de *Phyllomedusa oreades* Brandão, 2002 (Anura: Hylidae), uma espécie endêmica do Cerrado restrita a riacho de altitude. Dissertação de Mestrado em Ciências Florestais, Publicação do Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, DF, 47pags.
- CANDOLIN, U. 2003. The use of multiple cues in mate choice. *Biological Review* 78: 575-595.
- CAPRANICA, R. R. 1965. The Evoked Vocal Response of the Bullfrog. A Study of Communication by Sound. Research Monograph No 33. The M.I.T. Press, Cambridge Massachusetts. 110 pgs.
- CARAMASCHI, U. 2006. Redefinição do grupo de *Pithecopus azureus*, com redescritção de *P. megacephala* (Miranda-Ribeiro, 1926), revalidação de *P. azurea* Cope, 1862 e descrição de uma nova espécie (Amphibia, Anura, Hylidae). *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro* 62: 159-179.
- COCROFT, R.B. e RYAN, M.J. 1995. Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs. *Animal Behaviour* 49: 283-303.

- COSTA, T. B., GUIMARÃES, L. D. e BASTOS, R. P. 2010. Territorial and mating behavior in *Phyllomedusa azurea* (Anura: Hylidae) at a temporary pond in west-central Brazil. *Phyllomedusa* 9: 99-108.
- CUMMINGS, M. E., ROSENTHAL, G. G. e RYAN, M. J. 2003. A private ultraviolet channel in visual communication. *Proc. Royal Society B: Biological Sciences* 270: 897-904.
- DE LA RIVA, I., MÁRQUEZ, R. e BOSCH, J. 1995. Advertisement calls of eight Bolivian hylids (Amphibia, Anura). *Journal of Herpetology* 29: 113-118.
- DE LUNA, G., HÖDL, W. e AMÉZQUITA, A. 2010. Colour, size and movement as visual subcomponents in multimodal communication by the frog *Allobates femoralis*. *Animal Behaviour* 79: 739-745.
- DE OLIVEIRA, F. F. R., NOGUEIRA, P. A. G. e ETEROVICK, P. C. 2011. Natural history of *Phyllomedusa megacephala* (Miranda-Ribeiro, 1926) (Anura: Hylidae) in southeastern Brazil, with descriptions of its breeding biology and male territorial behavior. *Journal of Natural History* 46: 117-129.
- DIAS, T. M., MARAGNO, F. P., PRADO, C. P. A. e CECHIN, S. Z. 2014. Reproductive site selection in the leaf-frog *Phyllomedusa azurea* Cope, 1862 (Anura: Hylidae) in altered areas of the Brazilian Cerrado. *Journal of Natural History* 48: 2689-2699.
- DUELLMAN, E. W. e TRUEB, L. 1994. Biology of Amphibians. Editora The Johns Hopkins University. Baltimore, Maryland, USA. 670 pags.
- DUELLMAN, E. W., MARION, B. A. e HEDGES, B. S. 2016. Phylogenetics, classification, and biogeography of the treefrogs (Amphibia: Anura: Arboranae). *Zootaxa* 4104: 1-109.
- ERDTMANN, L. e AMÉZQUITA, A. 2009. Differential evolution of advertisement call traits in Dart-Poison frogs (Anura: Dendrobatidae). *Ethology* 115: 801-811.
- FAIVOVICH, J., HADDAD, C. F. B., BAËTA, D. JUNGFER, K.H., ÁLVARES, G. F. R. A., BRANDÃO, R. A., SHEIL, C., BARRIENTOS, L. S., BARRIO-AMORÓS, C. L., CRUZ, C. A.G. e WHEELER, W. C. 2010. The phylogenetic relationship of the charismatic poster frogs Phyllomedusinae (Anura, Hylidae). *Cladistics* 26: 227-261.

FREITAS, E. B., DE-CARVALHO, C. B., FARIA, R. G., BATISTA, R. C., BATISTA, C. C., COELHO, W. A. e BOCCHIGLIERI, A. 2008. Nicho ecológico e aspectos da história natural de *Phyllomedusa azurea* (Anura : Hylidae, Phyllomedusinae) no Cerrado do Brasil Central. *Biota Neotropica* 8: 2-11.

FROST, D. R. 2017. Amphibian Species of the World: Uma Referência Online. Versão 6.0. Disponível em: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA (acessado em Junho de 2017).

GERHARDT, H. C. 1991. Female mate choice in treefrogs: static and dynamic acoustic criteria. *Animal Behaviour* 42: 615-635.

GERHARDT, H. C. e HUBER, F. 2002. Acoustic communication in insects and anurans: Common problems and diverse solutions. The University of Chicago Press. Chicago. 531 pgs.

GERHARDT, H. C. 2005. Acoustic spectral preferences in two cryptic species of grey treefrogs: Implications for mate choice and sensory mechanisms. *Animal Behaviour* 70: 39-48.

GOMÉZ, D., RICHARDSON C., LENGAGNE, T., PLENET, S., JOLY, P., LÉNA, J. P. e THÉRY, M. 2009. The role of nocturnal vision in mate choice: females prefer conspicuous males in the European tree frog (*Hyla arborea*). *Proceedings of the Royal Society. Biological Sciences* 276: 2351-2358.

GOMÉZ, D., RICHARDSON, C., LENGAGNE, T., DEREK, M., PLENET, S., JOLY P., LÉNA, J. P., THÉRY, M. 2010. Support for a role of colour vision in mate choice in the nocturnal European treefrog (*Hyla arborea*). *Behavior* 147: 1753-1768.

GOVARDOVSKIĬ, V. I. E ZUEVA, L. V. 1974. Spectral sensitivity of the frog eye in the ultraviolet and visible region. *Vision Research* 14: 1317-1321.

GUIMARÃES, D. L.; LIMA, P. L.; JULIANO, F. R. e BASTOS, R. 2001. Vocalizações de espécies de anuros (Amphibia) no Brasil central. *Boletim Museu Nacional* 474: 1-14.

HAGA, I. A., DE CARVALHO, T. R., DE, ANDRADE, F. S. e GIARETTA, A. A. 2017. Advertisement and aggressive calls of *Pithecopus azureus* (Anura:

Phyllomedusidae) from the border of Brazil and Paraguay. *Phyllomedusa* 16: 47-56.

HÖDL, W. e AMÉZQUITA, A. 2001. Visual signaling in anuran amphibians. In: Anuran communication. Editor M. J. Ryan. Editora Smithsonian Institution. Washington, EUA. Pags 121-141.

HOUDE, A. E. 1987. Mate choice based upon naturally occurring color-pattern variation in a guppy population. *Evolution* 41: 1-10.

JANSEN e KÖHLER, 2008. Intraspecific combat behavior of *Phyllomedusa boliviana* (Anura: Hylidae) and the possible origin of visual signaling in nocturnal treefrogs. *Herpetological Review* 39: 290-293.

KÖHLER, J., JANSEN, M., RODRÍGUEZ, A., KOK, P. J. R., TOLEDO, L. F., EMMRICH, M., GLAW, F., HADDAD, C. F. B., RÖDEL, M. O. e VENCES, M. 2017. The use of bioacoustics in anuran taxonomy: Theory, terminology, methods and recommendations for best practice. *Zootaxa* 4251: 1-124.

LATTANZIO, M. S., METRO, K. J. e M., DONALD, B. 2014. Preference for male traits differ in two female morphs of the tree lizard, *Urosaurus ornatus*. *Plos One* 9: 1-9.

MAAN, M. E. e CUMMINGS, M. E. 2008. Female preferences for aposematic signal components in a polymorphic poison frog. *Evolution* 62:2334–2345

MAIA, R., ELIASON, C. M., BITTON, P.P., DOUCET, S. M. e SHAWKEY, M. D. 2013. Pavo : an R package for the analysis, visualization and organization of spectral data. *Methods in Ecology and Evolution* 2013: 1-9.

MÁRQUEZ, R. e BOSCH, J. 1997. Male advertisement call and female preference in sympatric and allopatric midwife toads. *Animal Behaviour* 54, 1333-1345.

MORRIS, R. M. e YOON, S. L. 1989. A mechanism for female choice of large males in the treefrog *Hyla chrysoscelis*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 25: 65-71.

MORRIS, R. M. 1989. Female choice of large males in the treefrog *Hyla chrysoscelis*: the importance of identifying the scale of choice. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 25: 272-281.

MORRISON, C., HERO, J. M. e SMITH, W. P. 2001. Mate selection in *Litoria chloris* and *Litoria xanthomera*: Females prefer smaller males. *Austral Ecology* 26: 223-232.

- NARINS, P.M., GRABUL, D. S., SOMA, K. K., GAUCHER, P. e HÖDL, W. 2005. Cross-modal integration in a dart-poison frog. *Proceedings of the National Academy of Science* 102: 2425-2429.
- OSÓRIO, D. e VOROBYEV, M. 2008. A review of the evolution of animal colour vision and visual communication signals. *Vision Research* 48: 2042-2051.
- PRESTWICH, K.N. 1994. The energetics of acoustic signalling in anurans and insects. *American Zoology* 34: 625-643.
- PARTAN, S. R. e MARLER, P. 2005. Issues in the classification of multimodal communication signals. *The American Naturalist* 166: 231-245.
- PEIG, J. e GREEN, A. J. 2009. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: The scaled mass index as an alternative method. *Oikos* 118: 1883-1891.
- PENG, L., ZHIYING, Z., SHUAI, Z. e WENGE, Z. 2013. Effect of female reproduction and mate choice on sexual size dimorphism in the Northeast Treefrog *Hyla ussuriensis* (Anura: Hylidae) in China. *Asian Herpetological Research* 3: 273-279.
- PODOS, J. 2000. Correlated evolution of morphology and vocal signal structure in Darwin's finches. *Nature* 409: 185-188.
- QUINN, G. e KEOUGH, M. 2002. *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. Editora Cambridge University Press. Cambridge, UK. 537 pags.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM 2011. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, AU. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>.
- RAND, A.S. 2001. *The history of frog communication system*. Em: *Anuran Communication*. Editado por: Michael J. Ryan. Smithsonian Institution Press. Washington DC. USA.
- RICHARDSON, C., GOMEZ, D., DURIEUX, R., THÉRY, M., JOLY, P., LÉNA, J. P., PLÉNET, SANDRINE e LEGAGNE, T. 2009. Hearing is not necessarily believing in nocturnal anurans. *Biology Letters*, publicado online 24 de março 2010

- RICHARDSON, C., POPOVICI, J., BELLVERT, F e LENGAGNE, T. 2009. Conspicuous colouration of the vocal sac of a nocturnal chorusing treefrog: carotenoid-based? *Amphibia-Reptilia* 30: 576-580.
- RIES, C., SPAETHE, J., SZTATECSNY, M., STRONDL, C. e HÖDL, W. 2008. Turning blue and ultraviolet: Sex-specific colour change during the mating season in the Balkan moor frog. *Journal of Zoology* 276: 229-236.
- ROBILLARD, T., HÓBEL, G., e GERHARDT, C. H. 2006. Evolution of advertisement signals in North American hyloid frogs: vocalizations as end-products of calling behavior. *Cladistics* 22: 533-545.
- ROJAS, B. ENDLER, J. 2013. Sexual dimorphism and intra-populational colour pattern variation in the aposematic frog *Dendrobates tinctorius*. *Evolutionary Ecology* 27: 739-753.
- ROJAS, B. 2016. Behavioural, ecological, and evolutionary aspects of diversity in frog colour patterns. *Biological Reviews* 92: 1059-1080.
- ROSENTHAL, G.G., RAND, A.S., RYAN, M.J. 2004. The vocal sac as a visual cue in anuran communication: an experimental analysis using video playback. *Animal Behaviour* 68: 55-58.
- RYAN, M. J. 1985. The Tungara Frog: A Study in Sexual-Selection and Communication. The University of Chicago Press. Chicago, USA. 230 pags.
- RYAN, M. J. e RAND, A. 2003. Sexual selection in female perceptual space: how female tungara frogs perceive and respond to complex population variation in acoustic mating signals. *Evolution* 57: 2608-2618.
- SASAKI, K., LESBARRÈRES, D., BEAULIEU, C. T., WATSON, G. e LITZGUS, J. 2016. Effects of a mining-altered environment on individual fitness of amphibians and reptiles. *Ecosphere* 7: 1-14.
- SCHRODE, K. M., WARD, J. L., VÉLEZ, A. e BEE, M. A. 2012. Female preferences for spectral call properties in the western genetic lineage of Cope's gray treefrog (*Hyla chrysoscelis*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 76: 211-220.

- SIDDIQI, A., CRONIN, T. W., LOEW, E. R., VOROBYEV, M. e SUMMERS, K. 2004. Interspecific and intraspecific views of color signals in the strawberry poison frog *Dendrobates pumilio*. *Journal of Experimental Biology* 207: 2471-2485.
- SULLIVAN, B. K. e HINSHAW, S. H. 1992. Female choice and selection on male calling behaviour in the grey treefrog *Hyla versicolor*. *Animal Behavior* 44: 733-744.
- SUMMERS, K., SYMULA, R., CLOUGH, M. e CRONIN, T. 1999. Visual mate choice in poison frogs. *Proceedings of the Royal Society of London B* 266: 2141-2145.
- SZTATECSNY, M., STRONDL, C., BAIERL, A., RIES, C. e HÖDL, W. 2010. Chin up: are the bright throats of male common frogs a condition-independent visual cue? *Animal Behaviour* 79: 779-786.
- SZTATECSNY, M., PREININGER, D., FREUDMANN, A., LORETTO, M. C., MAIER, F. e HÖDL, W. 2012. Don't get the blues: conspicuous nuptial colouration of male moor frogs (*Rana arvalis*) supports visual mate recognition during scramble competition in large breeding aggregations. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 66: 1587-1593.
- TAYLOR, R. C., BUCHANAN, B.W. e DOHERTY, J. L. 2007. Sexual selection in the squirrel treefrog *Hyla squirella*: the role of multimodal cue assessment in female choice. *Animal Behaviour* 74: 1753-1763.
- TAYLOR, R. C., KLEIN, B. A., STEIN, J. e RYAN, M. J. 2008. Faux frogs: multimodal signalling and the value of robotics in animal behaviour. *Animal Behaviour* 76: 1089-1097.
- TAYLOR, R. C., KLEIN, B. A., STEIN, J. e RYAN, M. J. 2011. Multimodal signal variation in space and time: how important is matching a signal with its signaler? *The Journal of Experimental Biology* 214: 815-820.
- TOLEDO, L. F. e HADDAD, C. F. B. 2009. Colors and some morphological traits as defensive mechanisms in anurans. *International Journal of Zoology* 2009: 1-12.
- TOLEDO, L.F., SAZIMA, I e HADDAD, C. F. B. 2010. Is it all death feigning? Case in anurans. *Journal of Natural History* 41 (31-32): 1979-1988.

- VÁSQUEZ, T. e PFENNIG, K. S. 2008. Looking on the bright side: Females prefer coloration indicative of male size and condition in the sexually dichromatic spadefoot toad, *Scaphiopus couchii*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 62: 127-135.
- WELCH, A.M., SEMLITSCH, R.D., GERHARDT, H.C. 1998. Call duration as an indicator of genetic quality in male gray tree frogs. *Science* 280: 1929-1930.
- WELLS, K. 2001. The energetic of calling frogs. In: Anuran Communication. Editor M. J. Ryan. Editora Smithsonian Institution. Washington, EUA. 45-60 Pags.
- WELLS, K. 2006. The Ecology and Behavior of Amphibians. The University of Chicago Press. Chicado. USA. 1148 pags.
- WILCZYNSKI, W., RAND, A.S., RYAN, M.J. 1995. The processing of spectral cues by the call analysis system of túngara frog, *Physalaemus putulosus*. *Animal Behaviour* 49: 911-929.
- ZIEGLER, L., ARIM, M. e NARINS, P.M. 2011. Linking amphibian call structure to the environment: the interplay between phenotypic flexibility and individual attributes. *Behavioral Ecology* 22: 520-526.
- ZIMERMANN, B.L. 1983. A comparison of structural features of calls of open and forest habitat frog species in central Amazon. *Herpetologica* 39: 235-245.

CAPÍTULO 3 –Cor, Forma e Canto Ajudam no Estabelecimento de Territórios em Machos de *Pithecopus azureus*?

RESUMO

Anfíbios anuros são conhecidos por formar imensos agregados de indivíduos durante a estação reprodutiva. Essas concentrações de indivíduos em um espaço temporal intensificam as competições por recursos sexuais e, portanto, machos desenvolvem comportamentos de territorialidade para garantir o acesso aos recursos limitados em muitas espécies. Nos anfíbios, o estabelecimento e manutenção dos territórios são mediados principalmente por sinais acústicos e, mais recentemente, estudos mostram que sinais visuais podem estar envolvidos da mesma forma nos contextos intrasexuais, atuando de forma bimodal, mediando a agressividade individual. O presente estudo teve como objetivo avaliar se sinais visuais e acústicos em *P. azureus* estão envolvidos na comunicação intrasexual e no estabelecimento e manutenção de territórios. Os resultados sugerem que o sinal visual pode atuar em contexto intrasexual para facilitar a detecção e reconhecimento individual, e que o fator mais importante influenciando no sucesso reprodutivo de indivíduos da espécie está relacionado com a permanência no coro, como sugerido para algumas espécies da Família Phyllomedusidae.

Palavras-chave: Territorialidade, sinal acústico, sinal visual, competição intrasexual, Phyllomedusidae, permanência no coro.

ABSTRACT

Anuran amphibians are known to form immense aggregates of individuals during the breeding season. These concentrations of individuals in a temporal space intensify competition for sexual resources and, therefore, males in many species develop territorial behaviors to guarantee access to limited resources. In amphibians the establishment and maintenance of territories are mainly mediated by acoustic signals; however, recent studies show that visual signals may be involved in the same way in male-male interactions, acting in a bimodal way, mediating individual aggressiveness towards intruders. The objective of this study was to evaluate whether visual and acoustic signals in *P. azureus* are involved in social communication and in the establishment and maintenance of territories. However, results of the study suggest that visual signals do not explain the differences between territorial males and floaters but may possibly be involved in social contexts for individual detection and recognition. Moreover, territorial males have lower body condition and are found more frequently in amplexus than are floaters. In conclusion, permanence in the chorus could be the most important feature favoring male reproductive success in the species, as suggested for some species of the Family Phyllomedusidae.

Keywords: Territoriality, acoustic signal, visual signal, social competition, Phyllomedusidae, chorus tenure.

INTRODUÇÃO

Durante o período reprodutivo os anfíbios anuros formam imensos agregados de indivíduos, que produzem sinais acústicos para atrair fêmeas e estabelecem territórios (WELLS, 1977; DUELLMANN e TRUEB, 1994; WELLS, 2007). Essas concentrações temporais e espaciais intensificam as competições sociais por recursos necessários para sobrevivência individual e reprodução, onde fica evidente que a capacidade de alguns indivíduos leva-os a obter desproporcionalmente a maior parte dos recursos, favorecendo a evolução de traços e características que aumentam o sucesso reprodutivo individual (WEST-EBERHARD, 1983; ANDERSSON, 1994). Uma expressão desses traços corresponde aos comportamentos territoriais observados em muitas espécies de anuros de reprodução prolongada.

Territorialidade seria o monopólio de um espaço físico por um determinado tempo por indivíduos dominantes que constantemente advertem, ameaçam, e, ou atacam indivíduos intrusos e invasores, não subordinados e não tolerados (KAUFMANN, 1983). A função dos territórios está centrada na ideia do acesso prioritário e aquisição de recursos escassos como comida, sítios de reprodução e ovoposição, abrigos contra predadores e cópulas (KAUFMANN, 1983). Entretanto, a defesa de territórios envolve custos como o aumento da conspicuidade para predadores, tempo e gastos energéticos associados à guarda e patrulha do território e, eventualmente, embates físicos, que ainda são mais custosos (KAUFMANN, 1983; BEGON et al., 2005). Para evitar gastos energéticos com brigas, algumas espécies adotam comportamentos menos custosos como produzir sinais de advertência, dependentes de tamanho e condição corporal, que são expressos por meio dos diferentes canais da comunicação acústica e visual (WELLS, 1976; ROBERTSON, 1986; WELLS, 2007; LOGUE et al., 2010). Dessa forma, indivíduos machos são capazes de avaliar as habilidades de combate do oponente durante encontros agonísticos através da emissão e recepção dos sinais acústicos e visuais e decidir no investimento de um embate físico (ROBERTSON, 1986).

Muitas espécies de anfíbios produzem cantos agressivos específicos que são utilizados para advertir machos intrusos e evitar confrontos diretos (ARAK, 1983; DUELLMAN e TRUEB, 1994; TOLEDO et al., 2015; KÖHLER et al., 2017). Algumas espécies emitem cantos que possuem ambos os componentes de atração de fêmeas e defesa territorial, enquanto outras espécies aumentam a agressividade do canto

simplesmente adicionando mais complexidade, notas ou pulsos, aos cantos de anúncio (NARINS e CAPRANICA, 1978; RYAN, 1985). Alguns estudos mostram que a frequência dominante do canto é negativamente correlacionada com o tamanho corporal em anfíbios e que tamanho confere uma vantagem em combates físicos entre machos (ARAK, 1983; ROBERTSON, 1986; GREEN, 1990). Dessa forma, machos conseguem estimar com maior precisão o tamanho individual, que reflete na habilidade de combate do oponente, e tem um maior aporte de informação para a decisão de se envolver em embates físicos (WELLS, 1977; WELLS, 1978; WELLS, 2007).

Sinais visuais são frequentemente utilizados como advertência durante encontros agonísticos em aves (PRYKE e ANDERSSON, 2003), peixes (MORRIS et al., 1994; BEECHING, 1995), lagartos (STAPLEY e WHITING, 2006; WHITING et al., 2006; DIK e EVANS, 2007) e anfíbios (LINDQUIST e HETHERINGTON, 1996; HÖDL e AMÉZQUITA, 2001; ALTER, 2004; HARTMANN et al., 2005; GIASSON e HADDAD, 2006; DE LUNA et al., 2010; CROTHERS et al., 2011; CROTHERS e CUMMINGS, 2015). Esses sinais são transmitidos por meio de exibições motoras, geralmente associados a movimentos do corpo, por padrões de manchas e cores e, sobretudo, carregam informações confiáveis sobre as habilidades de luta de potenciais rivais (MORRIS et al., 1994; ROJAS, 2016). Grande parte destes estudos sugere que machos que possuem cores mais vistosas mantêm maior dominância sobre recursos, enquanto machos menos vistosos assumem posição de subordinados. Em uma espécie de peixe-espada (*Xiphophorus multilineatus*) o número de barras verticais no corpo está correlacionado com a desistência a embates físicos, e dessa forma, é responsável por reduzir a agressividade em machos rivais (MORRIS et al., 1994). Padrões similares ocorrem em *Euplectes axillaris*, ave-do-paraíso da Família Ploceidae, que possuem dragonas vermelhas, formadas por pigmentos carotenoides, que funcionam no estabelecimento de territórios e em contextos intrasexuais (PRYKE e ANDERSON, 2003). Em lagartos, já foi demonstrado que a pele de machos territoriais possui maior saturação do ultravioleta do que machos intrusos e que tal coloração está associada à habilidade de luta durante encontros agonísticos (STAPLEY e WHITING, 2006; WHITING et al., 2006).

Nos anfíbios a maior parte dos estudos utilizando sinais visuais em contexto intrasexual foi realizada em espécies de hábitos diurnos e, ou, que vocalizam em ambientes onde a razão sinal/ruído inviabiliza a comunicação acústica (HÖDL e

AMÉZQUITA, 2001). Ademais, os trabalhos focam principalmente a modalidade motora, como o inflar do saco vocal e outros movimentos do corpo (LINDQUIST e HETHERINGTON, 1996; HÖDL e AMÉZQUITA, 2001; ALTER, 2004; HARTMANN et al., 2005; GIASSON e HADDAD, 2006; DE LUNA et al., 2010), embora existam alguns que investigaram a importância dos padrões de manchas e cores em encontros agonísticos (DE LUNA et al., 2010; CROTHERS et al., 2011; CROTHERS e CUMMINGS, 2015). Em sapos diurnos da Família Dendrobatidae, conhecida pela toxicidade e coloração conspícua, machos de *Oophaga pumilio* mais brilhosos possuem melhor condição corporal, são mais agressivos e defendem territórios por mais tempo (CROTHERS et al., 2011; CROTHERS e CUMMINGS, 2015). Entretanto, em outra espécie de Dendrobatidae, *Allobates femoralis*, o movimento do saco vocal e movimentos do corpo atuam como moduladores do sinal acústico, de forma bimodal e não redundante, aumentando a agressividade individual, e a coloração corporal não parece ser um componente importante na comunicação intraespecífica e parece atuar apenas em contextos interespecíficos (DE LUNA et al., 2010).

Anfíbios anuros da Família Phyllomedusidae podem ser caracterizados pela presença da coloração esverdeada no dorso, padrões de manchas e coloração conspícua na região dos flancos (presente na maior parte das espécies), por possuírem hábitos noturnos estritamente arborícolas, desovas terrestres realizadas em folhas de arbustos pendentes sobre a lâmina d'água, e por serem extremamente territoriais e fiéis aos sítios de vocalização (ABRUNHOSA e WOGEL, 2004; WOGEL et al., 2004; WELLS, 2007; JANSEN e KÖHLER, 2008; COSTA et al., 2010; VILAÇA et al., 2011; DE OLIVEIRA et al., 2011; DUELLMAN et al., 2016; DE OLIVEIRA, 2017), podendo permanecer por até três estações reprodutivas no mesmo sítio reprodutivo (DE OLIVEIRA et al., 2011; DE OLIVEIRA, 2017). Machos defendem territórios por meio de cantos agressivos, patrulha de territórios, sinais vibracionais e embates físicos (ABRUNHOSA e WOGEL, 2004; WOGEL et al., 2004; JANSEN e KÖHLER, 2008; CALDWELL et al., 2010; COSTA et al., 2010; VILAÇA et al., 2011; DE OLIVEIRA et al., 2011; DE OLIVEIRA, 2017).

Comportamentos visuais elaborados já foram documentados na Família Phyllomedusidae, no entanto, a função desses sinais ainda é bastante desconhecida (ABRUNHOSA e WOGEL, 2004; HÖDL e AMÉZQUITA, 2001; JANSEN e KÖHLER, 2008; CALDWELL, 2010). Em *Agalychnis callidryas*, a comunicação visual

é bastante evidente e complexa (RYAN, 1985) e, em interações agonísticas, machos podem produzir tremulações em ramos de árvores, sendo que a frequência dessas tremulações está correlacionada com o tamanho dos machos (CALDWELL et al., 2010). Outros comportamentos já observados na Família Phyllomedusidae envolvem movimentos das mãos (“*hand-waving*”), ou movimentos bruscos com as pernas (“*pedal luring*” e “*leg kicking*”) (HÖDL e AMÉZQUITA 2001; BERTOLUCI, 2002; ABRUNHOSA e WOGEL, 2004; JANSEN e KÖHLER, 2008). Até o presente momento, não existem estudos sobre o uso desses sinais visuais e as possíveis funções da coloração conspícua presente em machos e fêmeas de muitas espécies da Família.

O gênero *Pithecopus* possui coloração conspícua nos flancos, coxas e tíbias, que pode variar tanto na cor (amarelo, laranja, vermelho e roxo), quanto nos padrões de forma (ocelos, barras e reticulados). Esses padrões já foram utilizados para identificação de indivíduos de *P. oreades*, *P. megacephalus* e *P. ayeaye* em estudos de monitoramento e história natural, e portanto, constituem um sinal individual (DE OLIVEIRA et al., 2011; CANDIDO, 2013, DE OLIVEIRA, 2017). A função desse sinal está atribuída ao aposematismo e defesa contra predadores, devido à toxicidade das espécies (TOLEDO e HADDAD, 2009; ROJAS, 2016).

Pithecopus azureus é uma espécie que possui coloração conspícua avermelhada nos flancos, coxas e tíbias em um padrão de barras intercaladas com preto (CARAMASCHI, 2006). Possui ampla distribuição associada às formações abertas do Bioma Cerrado (FROST, 2017). É relativamente abundante, podendo ser encontrada mesmo em áreas alteradas (COSTA et al., 2010; DIAS et al., 2014). Vocaliza em arbustos e gramíneas às margens de poças naturais ou artificiais de brejos durante os meses de outubro a março (FREITAS et al., 2008; COSTA et al., 2010). Indivíduos de *P. azureus* são territorialistas e defendem os territórios utilizando cantos agressivos e embates físicos, embora existam alusões da possível aplicação de sinais visuais em contextos sexuais em algumas espécies do gênero (COSTA et al., 2010; DE OLIVEIRA, 2017; HAGA et al, 2017).

Com exceção de alguns poucos estudos com comunicação visual através da modalidade motora em contextos intrasexuais em anuros Neotropicais de hábitos noturnos (HARTMANN et al., 2005, GIASSON e HADDAD, 2006; FURTADO e NOMURA, 2013), pouco se sabe sobre a utilização dos padrões de manchas e coloração no estabelecimento de territórios e dominância de recursos sexuais em anuros de hábitos

noturnos. Dessa forma, essa investigação tem dois objetivos. Primeiramente, testei se alguma variável das modalidades acústica, visual e condição corporal explica a diferença entre machos territoriais, ou residentes, e visitantes efêmeros, ou flutuantes. Tal questão baseia-se sobre a premissa de que, se existem diferenças entre machos residentes e flutuantes, é possível que alguma das modalidades possa atuar em um contexto social intraespecífico, no estabelecimento e manutenção de territórios. O segundo objetivo deste trabalho foi averiguar se a permanência no coro pode aumentar o sucesso reprodutivo em *P. azureus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de Estudo

Foram estudadas duas populações de *P. azureus* encontradas em poças artificiais situadas em uma área de cerrado degradado na Fazenda Água Limpa (FAL) da Universidade de Brasília (47° 56' 46,30" O; 15° 58' 35,11" S) e em uma nascente situada na região do Córrego do Urubú, Brasília-DF (47° 51' 40" O; 15° 41' 52,47" S). A FAL possui aproximadamente 4.500 hectares de cerrado, está inserida na Área de Proteção Ambiental (APA) Gama Cabeça de Veado e a Área de Relevante Interesse Ecológico (ARIE) Capetinga/Taquara, situada no Distrito Federal e distante apenas 28 quilômetros do centro de Brasília. A poça situada na FAL possui aproximadamente 600m² e a vegetação predominante é de gramíneas (*Bracchiaria* sp. e *Cyperaceae*), seguida por pequenos arbustos pertencentes às Famílias *Solanaceae*, *Melastomataceae*, *Malvaceae* e *Fabaceae*. A área do Córrego do Urubu faz parte do Núcleo Rural Córrego do Urubu, pertencente à Região Administrativa do Lago Norte – RA XVIII, situada aproximadamente a 12 km do centro de Brasília, constituída principalmente por chácaras, e foi criada com o intuito de consolidar a modalidade de ocupação humana e preservação ambiental. A poça possui aproximadamente 300m² e a vegetação marginal predominante é composta por arbustos da Família *Melastomataceae*, *Malvaceae* e *Fabaceae*, bambus e gramíneas, em sua maioria (*Bracchiaria* sp.).

Amostragem

As amostragens consistiram na busca ativa por indivíduos machos de *P. azureus*, com a utilização de lanternas de luz noturna (infravermelho), para evitar interferências nos padrões de atividade dos indivíduos (BUCHANAN, 1993). Todos os indivíduos

foram marcados com etiquetas fluorescentes (ALPHA Tags) e soltos nos seus respectivos locais de captura. As localidades das capturas e recapturas dos indivíduos foram registradas e sinalizadas no campo com fitas coloridas.

Indivíduos machos recapturados no mesmo território, aqui arbitrariamente estipulado como a área determinada por um raio de 1 metro da primeira captura durante um período de pelo menos uma semana, foram considerados territoriais, ou residentes. Já machos com apenas um único registro durante todo o período de amostragem foram considerados flutuantes, ou visitantes efêmeros (“floaters”). Além disso, foram criadas classes de territorialidade, sendo 0 para indivíduos efêmeros, 1 para os indivíduos que permaneceram por uma semana no local de captura (i.e. dentro da área de até 1 metro da primeira captura), 2 para aqueles que permaneceram por até um mês no território, 3 os indivíduos que permaneceram por até dois meses, 4 aqueles que foram vistos no mesmo local por toda uma estação reprodutiva, e 5 para aqueles que foram vistos no mesmo local por mais de uma estação reprodutiva.

As visitas aos sítios amostrais foram realizadas nos horários de atividade da espécie (20:00 h – 05:00 h), três dias por semana, intercalando as visitas entre as localidades FAL e Urubu. Na região central do Brasil, as chuvas ficam restritas tipicamente ao período entre outubro e março, quando ocorre a reprodução da espécie estudada. As amostragens realizadas coincidiram com meses no período reprodutivo da espécie, representando amostragens mais sistemáticas de dois períodos reprodutivos: novembro 2014 e fevereiro 2015 (1ª estação); dezembro 2015, janeiro-março 2016 (2ª estação). Além destes dois ciclos reprodutivos, amostragens focadas foram realizadas antes (fevereiro 2014) e após (dezembro 2016) os dois períodos reprodutivos.

Foram gravados os cantos reprodutivos dos machos territoriais de *P. azureus* com gravador digital portátil Marantz PMD 660, em razão de amostragem de 48 kHz e resolução de amplitude de 16 bits, e microfone direcional Senheisser ME-67. Ao final de cada gravação os animais foram capturados e imagens fotográficas da região lateral (flanco) direita e dorsal dos sapos foram registradas com uma câmera digital Cannon (modelo PowerShot ELPH 110 HS) contra uma régua, para servir de escala na análise dos padrões de manchas. Em seguida, os indivíduos foram pesados com uma balança de precisão do tipo Pesola e tomadas as medidas comprimento rostro-uróstilo (CRU) com paquímetro milimétrico.

As medidas de reflectância (RE) foram tomadas com um espectrofotômetro Ocean Optics USB4000 e uma fonte de luz de xenônio pulsante PX-2 (Ocean Optics, Dunedin, Florida), que fornece iluminação no espectro ultra-violeta, infra-vermelho e visível para humanos (300-900nm). Um suporte de fibra óptica, em alumínio anodizado e com ângulo de 45° foi utilizado para (1) reduzir brilho e reflexão especular, (2) eliminar luz ambiental, e (3) padronizar a distância de 2 mm entre a sonda e a pele, e uma área de varredura em 2 mm de diâmetro (SZTATECSNY et al., 2010). Um branco puro WS-1 (Ocean Optics) foi utilizado para calibrar o espectrofotômetro entre cada medição. Selecionei uma área na região dorsal e a região com maior área vermelha no flanco direito para a amostragem, por serem regiões do corpo com coloração mais contrastante e mais visível para conspécíficos e, por fim, foram tomadas três medidas repetidas de cada uma dessas regiões escaneadas, sendo as médias destas utilizadas nas análises.

Análise de Dados

Os dados acústicos foram analisados com o programa RAVEN 1.4 (BIOACUSTIC RESEARCH PROGRAM, 2011) e os parâmetros para gerar os espectrogramas foram: janela tipo = “*Hann*”, pontos de resolução (FFT) = 256, filtro de comprimento de onda (3db) = 270 Hz e tamanho (DFT) = 256 amostras. Foram tomadas medidas das variáveis de duração do canto, número de pulsos por nota, frequência dominante, frequência máxima e frequência mínima, amplitude de frequência (freq. max. - freq. min.), frequências dominantes do primeiro pulso e do último pulso e a modulação na frequência, calculada pela diferença entre a frequência dominante do último pulso e a frequência dominante do primeiro pulso, conforme KÖHLER e colaboradores (2017).

As fotografias do padrão de manchas no flanco (PMF) foram analisadas com o programa ImageJ e foram extraídas medidas da razão da cor vermelha com relação à área total $\left(\frac{\text{área vermelho}}{\text{área total}}\right)$, razão da cor preta com relação à área total $\left(\frac{\text{área preto}}{\text{área total}}\right)$ e razão do sinal $\left(\frac{\text{área vermelho}}{\text{área preto}}\right)$. As análises de RE foram realizadas com o pacote PAVO no programa estatístico R e as seguintes variáveis cromáticas foram utilizadas: saturação do croma (S8), matiz (H3), saturação na faixa que compreende pigmentos carotenoides

(S9) (somente para região do flanco) e saturação do ultravioleta (UV) (somente do dorso), e variável acromática: Brilho (B2), conforme MAIA e colaboradores (2013).

Os procedimentos estatísticos e testes de hipóteses foram realizados separadamente para cada um dos conjuntos de dados que compreendem a modalidade visual do padrão de manchas no flanco (PMF), reflectância espectrofotométrica (RE) e acústica, devido ao número de amostras serem diferentes entre as modalidades.

Procedimentos Estatísticos

Todos os dados foram testados quanto à normalidade (teste de Shapiro-Wilk) e heterocedasticidade (teste de Bartlett) antes das análises estatísticas e, quando necessário, foram empregados modelos matemáticos para corrigir possíveis desvios de distribuição.

A possível utilização dos sinais visuais em contextos intrasexuais em *P. azureus* foi averiguada contrastando as diferenças entre machos territoriais e visitantes efêmeros nas variáveis das modalidades visuais (PMF e RE), acústicas, de tamanho do corpo (CRU) e índice de massa corporal. Primeiramente, foi realizada uma PCA (Análise de Componentes Principais), utilizando uma matriz de correlação, para reduzir o número de variáveis explicativas pertencentes às modalidades visual e acústica em eixos canônicos, ou componentes principais independentes, que maximiza a variação dos dados e elimina as correlações entre as variáveis independentes (QUINN e KEOUGH, 2002). Em seguida, foram elaborados Modelos Lineares Generalizados com distribuição binomial do erro, também chamada de Regressão Logística Binária, para avaliar a relação entre as variáveis explicativas (componentes principais das variáveis de PMF, RE e canto) e a variável resposta (territorial vs. visitantes), e as variáveis de localidade, tamanho corporal e índice de massa corporal (ver descrição abaixo) como co-variáveis do modelo. Por fim, para testar a diferença entre as classes de territorialidade foi utilizada uma regressão logística ordinal. A adequação dos modelos lineares foi verificada através do teste de Qui-quadrado (X^2) de Wald. O valor crítico para determinar a significância estatística dos modelos foi definido por $P < 0,05$.

O índice de massa corporal foi calculado utilizando o método de PEIG e GREEN (2009), conhecido como “Scaled Mass Index” (SMI) e utilizado em estudos de

aptidão individual de répteis e anfíbios em áreas alteradas (SASAKI et al., 2016). Esse índice é computado com a seguinte fórmula:

$$SMI = Pi \left[\frac{C_0}{C_i} \right]^{bSMA}$$

Onde P e C são medidas de peso e comprimento do corpo do indivíduo i , respectivamente; C_0 é o valor da média aritmética do comprimento dos indivíduos da população estudada; $bSMA$ é o expoente escalonar calculado pela regressão SMA (Eixo Maior Padronizado) de P em C , ou indiretamente dividindo a inclinação da reta da regressão de P e C , pelo coeficiente r da correlação de Pearson (PEIG e GREEN, 2009).

Todas as análises estatísticas foram conduzidas com o programa estatístico R versão 0.97.551 (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011)

RESULTADOS

Durante o período amostrado, foram capturados 112 machos, de um total de 206 registros em 63 noites de amostragens, totalizando 378 horas de busca ativa. Observações em campo de indivíduos marcados mostram que machos de *P. azureus* defendem territórios através da emissão de cantos agressivos e embates físicos por mais de uma estação reprodutiva. Esses territórios, geralmente constituídos por arbustos e folhas pendentes ou não sobre a lâmina d'água, são utilizados como sítios de vocalização de machos e ovoposição de fêmeas. A maior parte dos machos capturados foram considerados como visitantes efêmeros (62%, N=70) e os machos residentes representaram 38% dos indivíduos capturados durante todo o estudo (N=42). A maior parte dos indivíduos residentes permaneceu por, pelo menos, uma semana defendendo territórios, e foram distribuídos em categorias de permanência no mesmo território: por uma semana, categoria 1 (40%, N=17); um mês, categoria 2 (14%, N=6); dois meses, categoria 3 (14%, N=6); uma estação reprodutiva, categoria 4 (14%, N=6); e indivíduos que permaneceram por mais de uma estação reprodutiva no mesmo local, categoria 5 (17%, N=7). Foi observado a reposição, ou “*turn-over*”, com a entrada de novos indivíduos machos, a partir do terço final da primeira estação reprodutiva e alguns destes indivíduos foram os primeiros a ocupar os territórios na próxima estação reprodutiva e correspondem às categorias de territorialidade 4 e 5 (N=9).

Durante todo o período de amostragem foram encontrados 18 machos em amplexo. A maioria destes machos (N=12) ou defendeu territórios por mais de dois meses ou por toda uma estação reprodutiva (Figura 1). De todos os machos territoriais, a maior parte foi vista copulando somente uma vez (38%, N=16) e poucos foram vistos copulando mais do que uma vez durante o estudo (N=2). Visitantes efêmeros foram vistos em amplexo em somente duas oportunidades (3%, N=70) durante todo o período do estudo.

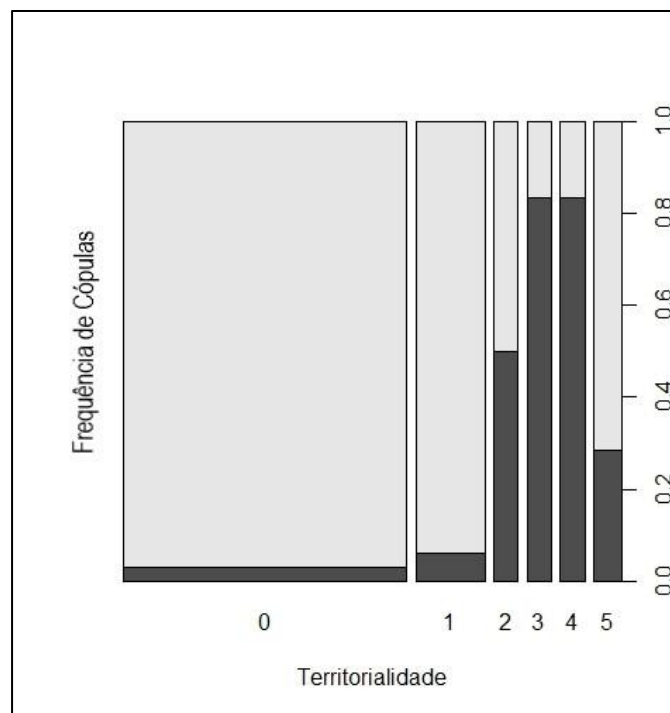


Figura 1. Frequência de cópulas de acordo com as categorias de territorialidade em *P. azureus*. Largura das barras corresponde ao número de amostras em cada categoria.

Diferenças entre Machos Residentes e Efêmeros no Padrão de Manchas no Flanco

O primeiro componente principal explica 78% da variação e descreve a correlação entre a área do sinal e a razão do sinal vermelho do padrão de manchas no flanco (Tabela 1).

Tabela 1. Análise de componentes principais das variáveis de padrão de manchas no flanco e a variação explicada pelos dois primeiros componentes.

Variáveis	Auto-Vetores	
	Componente 1	Componente 2
Área vermelho/preto	-0.645	-
Razão de vermelho	-0.519	0.766
Razão de preto	0.561	0.64
Varição	78%	20%

Não existem diferenças entre indivíduos residentes e machos efêmeros nas variáveis de tamanho do padrão de manchas no flanco (Componente 1: Wald $X^2 = 0,796$, $df = 1$, $N = 110$, $P = 0,37$), nem entre localidades (Localidade: Wald $X^2 = 1,2864$, $df = 1$, $N = 110$, $P = 0,25$), tamanho corporal (CRU: Wald $X^2 = 0,0181$, $df = 1$, $N = 110$, $P = 0,89$) e condição corporal (SMI: Wald $X^2 = 0,0424$, $df = 1$, $N = 110$, $P = 0,83$).

O resultado da regressão logística ordinal também não mostrou diferenças entre as categorias de territorialidade utilizando o componente principal 1 (Componente 1: Wald $X^2 = 0,7482$, $df = 1$, $N = 110$, $P = 0,38$), no tamanho (CRU: Wald $X^2 = 0,0424$, $df = 1$, $N = 110$, $P = 0,83$) e condição corporal (SMI: Wald $X^2 = 0,0424$, $df = 1$, $N = 110$, $P = 0,83$).

Diferenças entre Machos Residentes e Efêmeros na Reflectância Espectral

De acordo com o resultado da PCA, o componente principal 1 explica 30% da variação dos dados, mostra principalmente a correlação entre as variáveis de reflectância do croma do dorso (S8_dorso) e matiz do dorso (H1_dorso), com valores positivos, e a correlação das variáveis ultravioleta (UV) e brilho (B2_dorso), com valores negativos. O componente principal 2, com 19% da variação dos dados, mostra a correlação entre praticamente todas as variáveis de reflectância do dorso e flanco. Entretanto as variáveis com maiores valores foram brilho (B1_flanco), matiz do flanco (H1_flanco) e matiz do dorso (H1_dorso). O componente 3 é representado principalmente pela variável do croma no flanco e UV no dorso, e por fim, o componente 4 com a variável de saturação da faixa que compreende a reflexão do caroteno (S9_flanco) (Tabela 2).

Tabela 2. Análise de componentes principais das variáveis de reflectância espectral.

Variáveis	Auto-Vetores			
	Componente 1	Componente 2	Componente 3	Componente 4
Brilho dorso	-0.503	0,165	-0.156	0.289
UV dorso	-0.429	-0.198	0.375	0.221
Croma dorso	0.563	-0.144	-	-0.227
Matiz dorso	0.299	-0.48	0.329	0.381
Brilho flanco	-	-0.647	-0.201	0.159
Croma flanco	-	-0.256	-0.751	-0.189
Croma carotenoide	-0.236	-0.121	0.347	-0.737
Matiz flanco	-0.302	-0.429	-	-0.26
Varição	30%	19%	15%	11%

O resultado do modelo linear generalizado não revelou diferenças entre indivíduos machos residentes e machos efêmeros nos componentes principais 1, 2, 3 e 4, que explicam a maior parte da variação dos dados (75%) de cor no dorso e flanco de *P. azureus* (Componente 1: Wald $X^2 = 0,268$, $df = 1$, $N = 36$, $P = 0,60$; Componente 2: Wald $X^2 = 0,009$, $df = 1$, $N = 36$, $P = 0,92$; Componente 3: Wald $X^2 = 0,9386$, $df = 1$, $N = 36$, $P = 0,33$; Componente 4: Wald $X^2 = 1,270$, $df = 1$, $N = 36$, $P = 0,72$), na localidade (Localidade: Wald $X^2 = 0,293$, $df = 1$, $N = 36$, $P = 0,50$), nem tampouco em tamanho corporal ou índice de massa corporal (CRU: Wald $X^2 = 0,0034$, $df = 1$, $N = 36$, $P = 0,95$; SMI: Wald $X^2 = 0,003$, $df = 1$, $N = 36$, $P = 0,95$).

O resultado da regressão linear ordinal também não mostrou diferenças entre as categorias de territorialidade utilizando os componentes principais 1, 2, 3 e 4 das variáveis de cor (Componente 1: Wald $X^2 = 0,8399$, $df = 1$, $N = 36$, $P = 0,35$; Componente 2: Wald $X^2 = 0,1273$, $df = 1$, $N = 36$, $P = 0,72$; Componente 3: Wald $X^2 = 0,0291$, $df = 1$, $N = 36$, $P = 0,86$; Componente 4: Wald $X^2 = 0,0025$, $df = 1$, $N = 36$, $P = 0,95$), na localidade (Localidade: Wald $X^2 = 0,0040$, $df = 1$, $N = 36$, $P = 0,94$) e nem no tamanho corporal ou índice de massa corporal (CRU: Wald $X^2 = 0,1034$, $df = 1$, $N = 36$, $P = 0,74$; SMI: Wald $X^2 = 0,0748$, $df = 1$, $N = 36$, $P = 0,78$).

Diferenças entre Machos Residentes e Flutuantes no Canto de Anúncio

O resultado da PCA mostra que o componente principal 1, com 40% da variação, tem correlação com as variáveis espectrais de frequência máxima e frequência dominante do último pulso, apresentando os maiores valores negativos, e uma

correlação com variáveis temporais de tempo do canto e número de pulsos por canto, com valores positivos. Os componentes principais 2 e 3, explicam 24% e 16% da variação, respectivamente. O componente 2 é representado pela variável de frequência mínima (maior valor negativo) e amplitude de frequência (maior valor positivo), e o componente 3 mostra que a modulação de frequência (FM) apresenta a maior importância do componente, com maior autovalor (Tabela 3).

Tabela 3. Análise de componentes principais das variáveis acústicas do canto de anúncio.

Variáveis	Auto-Vetores			
	Comp. 1	Comp. 2	Comp. 3	Comp. 4
Frequência máxima	-0.432	0.249	-0.23	-0.169
Frequência dominante	-0.389	-0.221	-	-0.266
Frequência mínima	-0.147	-0.594	0.24	-
Amplitude de frequência	-0.207	0.559	-0.316	-0.12
Duração do canto	0.38	-	-0.255	-0.525
Pulso/canto	0.368	-0.16	-0.231	-0.536
Frequência no 1° pulso	-0.377	-0.31	-0.372	-
Frequência no último pulso	-0.42	-	0.261	-0.43
Modulação de frequência	-	0.305	0.681	-0.369
Variação	40%	24%	16%	10%

De acordo com o modelo linear generalizado não existem diferenças entre indivíduos machos residentes e machos visitantes efêmeros nos componentes principais 1, 2, 3 e 4 das variáveis do canto de *P. azureus* (Componente 1: Wald $X^2 = 0,1924$, $df = 1$, $N = 49$, $P = 0,66$; Componente 2: Wald $X^2 = 0,0029$, $df = 1$, $N = 49$, $P = 0,95$; Componente 3: Wald $X^2 = 0,0563$, $df = 1$, $N = 49$, $P = 0,81$; Componente 4: Wald $X^2 = 0,0504$, $df = 1$, $N = 49$, $P = 0,82$), na localidade (Localidade: Wald $X^2 = 0,2846$, $df = 1$, $N = 49$, $P = 0,59$) e nem no tamanho corporal (CRU: Wald $X^2 = 1,7759$, $df = 1$, $N = 49$, $P = 0,18$). O modelo linear generalizado indicou uma diferença marginalmente significativa entre machos territoriais e efêmeros em condição corporal (SMI: Wald $X^2 = 3,5911$, $df = 1$, $N = 49$, $P = 0,05$) (Tabela 4).

A regressão logística ordinal também não mostrou diferenças entre as categorias de territorialidade utilizando os componentes principais 1, 2, 3 e 4 com as variáveis de canto (Componente 1: Wald $X^2 = 0,4559$, $df = 1$, $N = 49$, $P = 0,49$; Componente 2: Wald $X^2 = 0,1383$, $df = 1$, $N = 49$, $P = 0,71$; Componente 3: Wald $X^2 = 0,0322$, $df = 1$,

$N = 49$, $P = 0,85$; Componente 4: Wald $X^2 = 0,1414$, $df = 1$, $N = 49$, $P = 0,70$). Entretanto, foram evidenciadas diferenças entre machos residentes e efêmeros no comprimento do corpo e no índice de massa corporal (CRU: Wald $X^2 = 4,6313$, $df = 1$, $N = 49$, $P = 0,03$; SMI: Wald $X^2 = 10,4853$, $df = 1$, $N = 49$, $P = 0,001$) (Tabela 4) (Figura 2). Portanto, temos machos territoriais que permanecem defendendo territórios por até dois meses (categoria 3) menores que os demais e machos que defendem territórios por até dois meses (categoria 3) e por mais de uma estação reprodutiva (categoria 5) com menores valores de tamanho e condição corporal.

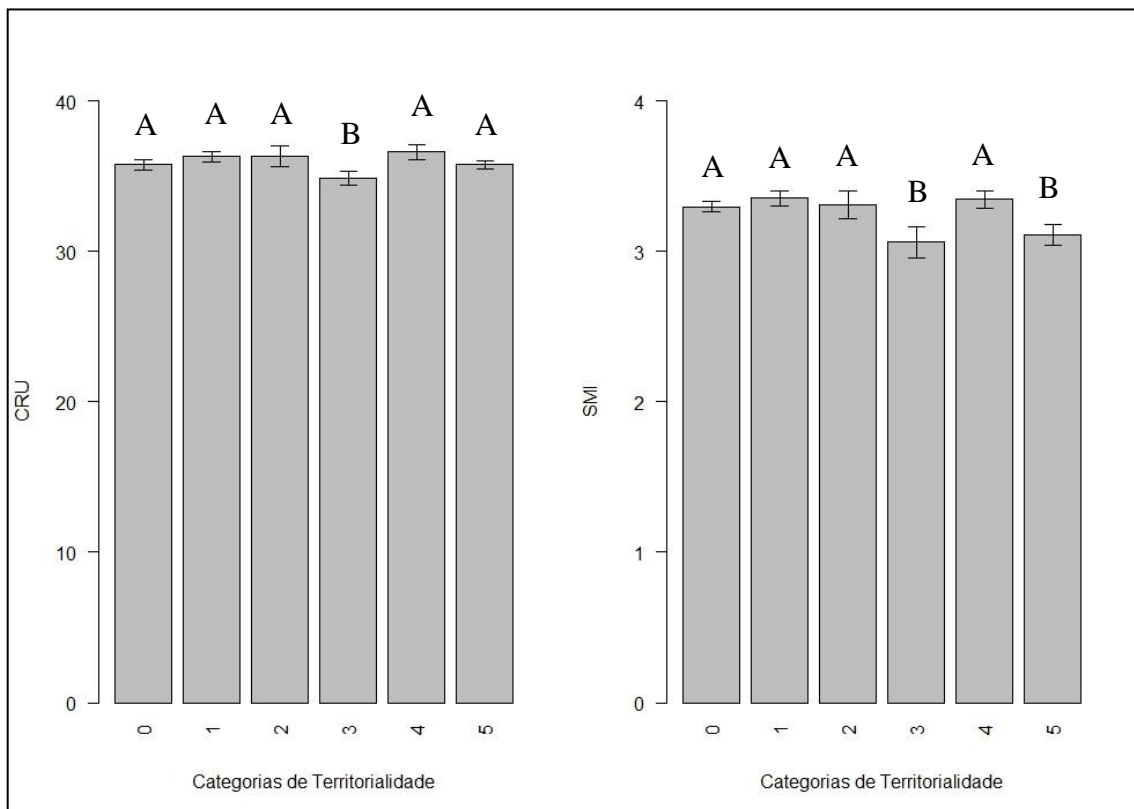


Figura 2. Gráfico de barras mostrando as diferenças entre as categorias de territorialidade nas variáveis CRU (tamanho corporal) e SMI (condição corporal).

Tabela 4. Estatística descritiva dos sinais acústicos e visuais em machos de *P. azureus* territoriais e visitantes e valores dos modelos lineares generalizados, dos PCAs, localidade, tamanho (CRU) e índice de massa corporal (SMI).

Variáveis Visuais	Média ± DP (Amplitude)		Regressão Logística Binária			
	Territoriais (N = 42)	Visitantes (N = 70)	Auto-vetores	Wald X2	df	P
Padrão de manchas no flanco						
Vermelho/Preto	1,82 ± 0,44 (0,99 - 2,5)	1,87 ± 0,57 (0,95 - 3,86)	Comp. 1	0,7964	109	0,37
Razão de vermelho	0,44 ± 0,04 (0,33 - 0,56)	0,44 ± 0,06 (0,32 - 0,70)	Localidade	1,286	109	0,25
Razão de Preto	0,25 ± 0,05 (0,17 - 0,40)	0,25 ± 0,05 (0,14 - 0,38)	CRU	0,018	109	0,89
CRU	36,2 ± 1,18 (33,7 - 38,4)	36 ± 1,5 (32,7 - 39,1)	SMI	0,0424	109	0,83
SMI	3,26 ± 0,21 (2,83 - 3,64)	3,25 ± 0,20 (2,73 - 3,68)				
Reflectância espectrométrica	Territoriais (N=18)	Visitantes (N= 18)				
Matiz dorso (H1)	576 ± 127 (362-806)	591 ± 96,9 (398 - 732)	Comp. 1	0.2688	35	0.6
Brilho dorso (B2)	531 ± 85,4 (380 - 668)	525 ± 121 (349 - 756)	Comp. 2	0.0094	35	0.92
Saturação dorso (S8)	1,8 ± 0,28 (1,3 - 2,6)	1,91 ± 0,46 (1,43 - 2,99)	Comp. 3	0.9386	35	0.33
Saturação do UV (UV)	0,19 ± 0,03 (0,11 - 0,23)	0,19 ± 0,04 (0,10 - 0,24)	Comp. 4	0.127	35	0.72
Saturação carotenóide (S9)	9,13 ± 17,4 (-0,82 - 56,6)	15,8 ± 59,35 (-0,73 - 253)	Localidade	0.2937	35	0.58
Matiz flanco (H1)	669 ± 49,6 (568 - 743)	646 ± 77,4 (482 - 737)	CRU	0.0034	35	0.95
Brilho flanco (B2)	760 ± 230 (428 - 1186)	814 ± 239 (516 - 1312)	SMI	0.0035	35	0.95
Saturação flanco (S8)	2,26 ± 0,38 (1,72 - 3,08)	2,16 ± 0,22 (1,74 - 2,51)				
Sinal Acústico	Territoriais (N = 29)	Visitantes (N = 20)				
Freq. mínima (Hz)	1398 ± 113 (1126 - 1657)	1414 ± 120 (1229 - 1632)	Comp. 1	0.1924	48	0.66
Freq. dominante (Hz)	2128 ± 67 (1968 - 2250)	2144 ± 80 (2040 - 2250)	Comp. 2	0.0029	48	0.95
Freq. máxima (Hz)	2658 ± 142 (2513 - 2761)	2656 ± 95 (2499 - 2848)	Comp. 3	0.0563	48	0.81
Freq. delta	1260 ± 198 (959 - 1988)	1241 ± 146 (1016 - 1456)	Comp. 4	0.0504	48	0.82
Tempo (mseg)	43,7 ± 11,1 (26,6 - 74,0)	44,8 ± 10,2 (30,2 - 64,7)	Localidade	0.2846	48	0.59
Pulso	4,6 ± 1,2 (3 - 9)	4,4 ± 0,5 (3 - 6)	CRU	1.7759	48	0.18
Freq. 1º Pulso	2199 ± 108 (2113 - 2343)	2206 ± 123 (1875-2499)	SMI	3.5911	48	0.05
Freq. 2º Pulso	2013 ± 99 (1857 - 2193)	2035 ± 101 (1829-2250)				
FM	-185 ± 90,7 (-344 - 0,5)	-171 ± 114 (-412 - 161)				

DISCUSSÃO

Conforme descrito na literatura e observado no presente estudo (capítulos 1 e 2), *P. azureus* é uma espécie de reprodução prolongada, com a razão sexual operacional enviesada para machos, onde machos e fêmeas chegam de forma assincrônica ao sítio reprodutivo. Machos apresentam comportamento territorial, onde podem permanecer no mesmo local defendendo seus territórios através de cantos agressivos e constantes patrulhas (DE CARVALHO et al., 2008; COSTA et al., 2010, DIAS et al., 2014). Alguns trabalhos sugerem que o gênero *Pithecopus* defende territórios por um curto período de tempo (WELL, 2007; DE CARVALHO et al., 2008; COSTA et al., 2010); entretanto, foi possível observar neste estudo, pela primeira vez, machos *P. azureus* exibindo forte fidelidade a sítios de vocalização, podendo defender territórios por mais de uma estação reprodutiva. Essa observação, no entanto, não é surpreendente, uma vez que algumas espécies do gênero podem permanecer no mesmo sítio reprodutivo por até três anos consecutivos (DE OLIVEIRA, 2011; DE OLIVEIRA, 2017) e novos estudos de longa duração com outras espécies do gênero podem confirmar tal padrão de fidelidade de sítio de vocalização.

Espécies de anuros que defendem os sítios reprodutivos e sítios de ovoposição por longo período, tendem a apresentar comportamentos agressivos muito mais elaborados que espécies de reprodução explosiva (sensu Wells, 1977) (WELLS, 2007). No presente estudo foi avaliado apenas o canto de anúncio, que tem como função principal a atração de fêmeas, e a falta de significância dos resultados pode estar relacionada ao tipo de canto analisado. Durante encontros agonísticos, machos de *P. azureus* emitem cantos agressivos complexos, compostos por uma série de grupos de notas longas, graves, pulsadas e modulação na amplitude (BRANDÃO et al., 2009; HAGA et al., 2017). Esse canto pode ser responsável pelo estabelecimento e manutenção de territórios em *P. azureus*, da mesma forma que ocorre em algumas espécies de anfíbios que produzem cantos mais agressivos, aumentando a complexidade dos cantos adicionando notas, aumentando a duração e número de pulsos (RYAN, 1985). Portanto, é sensato sugerir que o canto de anúncio em *P. azureus* não atua em contextos intrasexuais.

Pithecopus azureus defende territórios que consistem, principalmente, em arbustos e folhas, que representam recursos importantes para sobrevivência e sucesso

reprodutivo, como sítios de ovoposição, de vocalização e abrigo contra predadores (DIAS et al., 2014). Fêmeas de *P. azureus* são responsáveis por escolher o local da ovoposição, situada nos territórios dos machos, e alguns estudos indicam que o sucesso reprodutivo no desenvolvimento dos ovos está relacionado com o tipo de folha onde são depositados (DE FREITAS et al., 2008; DE OLIVEIRA, 2011; DIAS et al., 2014; DE OLIVEIRA, 2017). Portanto, com todas essas características, é possível que o sistema de acasalamento das populações estudadas de *P. azureus* seja baseado na defesa de recursos, ou algum tipo de agregação de territórios onde existe alguma defesa de recursos, mas não baseado no sistema de lek clássico, onde machos se agregam de forma sincrônica no coro e defendem sítios não dependentes de recursos, como sugerido por Wells (2007) para *Pithecopus hypochondrialis* e Dias e colaboradores (2017) para *Phyllomedusa iheringii*. Entretanto, estudos complementares com outras espécies aparentadas que compartilham a mesma história de vida, são necessários para testar essa hipótese. Ademais, é possível que exista uma plasticidade no sistema de acasalamento intraespecífico, capaz de mudar de agregação dependente de recursos para um sistema de acasalamento de animais de reprodução explosiva (“*scramble competition*”), descrito para duas espécies irmãs de *P. azureus* (*P. ayeaye*, *P. megacephala*), em situações onde há aumento significativo na densidade populacional (DE OLIVEIRA et al., 2011; DE OLIVEIRA, 2017) e, até condições ambientais (BRIGGS, 2008; LLUSIA et al., 2013).

Não foram encontradas diferenças significativas na área do padrão de manchas, cor e o canto entre machos residentes e visitantes efêmeros e, portanto, esses sinais não parecem atuar no estabelecimento e manutenção de territórios em *P. azureus*. Portanto, não aparentam conferir habilidade de luta para machos territoriais. No entanto, é razoável sugerir que os padrões de manchas possam sinalizar a presença de machos territoriais, visto que os machos possuem comportamentos de expor as partes conspícuas do flanco e selecionar sítios de vocalização com base na exposição do poleiro (DIAS et al., 2014). Além disso, o padrão de manchas pode também ser utilizado para uma localização mais rápida e precisa de possíveis machos invasores, enquanto patrulham seus territórios (DIAS et al., 2014). A rápida localização de possíveis machos intrusos pode conferir uma maior habilidade na defesa de território e maior sucesso reprodutivo de machos residentes.

É possível que indivíduos machos que chegam primeiro e permanecem por mais tempo no coro, machos residentes, detenham maiores vantagens na defesa e manutenção dos territórios. Já foi constatado que alguns anfíbios anuros que iniciam as atividades de vocalização possuem altas taxas de testosterona, são mais agressivos, e possuem maior percepção do espaço do ambiente (WELLS, 2007; DIAS et al., 2014). A permanência no coro pode ser o aspecto mais importante não só na manutenção dos territórios como também no sucesso reprodutivo de *P. azureus*. Estudos demonstram que a permanência no coro pode aumentar consideravelmente o sucesso reprodutivo em algumas espécies de reprodução prolongada (RYAN, 1985; WELLS, 2007). A maior frequência de cópulas observada no presente estudo foi observada para indivíduos que permaneceram defendendo território por mais de dois meses e aqueles que permaneceram por uma estação reprodutiva completa.

Tamanho dos machos é o principal responsável pelo sucesso em embates físicos, no estabelecimento de territórios e para evitar lutas (WELLS, 2007) e foi observado em algumas espécies do gênero *Agalychnis*, membros da Família Phyllomedusidae (BRIGGS, 2008). No entanto, o tamanho é mais importante em espécies onde o embate físico é, geralmente, a forma de estabelecer dominância, e não a utilização dos sinais de advertência (WELLS, 2007). Embate físico é conhecido para muitas espécies de Phyllomedusidae (ABRUNHOSA e WOGEL, 2004; WOGEL et al., 2004; JANSEN e KÖHLER, 2008; COSTA et al., 2010; VILAÇA et al., 2011; DE OLIVEIRA et al., 2011; DE OLIVEIRA, 2017; DIAS et al., 2017), mas não é um comportamento observado com muita frequência na natureza (DE CARVALHO et al., 2008; COSTA et al., 2010, DE OLIVEIRADE et al., 2011; DIAS et al., 2014; DE OLIVEIRA, 2017). Além do mais, são considerados comportamentos mediados pela densidade populacional e competição por recursos escassos (WELLS, 2007). Durante o período do estudo não foi observado nenhum embate físico, somente um evento agonístico onde um macho territorial tentou deslocar o amplexo de um macho intruso.

Os resultados deste estudo mostram que existe uma tendência de indivíduos residentes possuírem menores tamanhos e menor condição corporal do que visitantes efêmeros. Esse resultado pode ser explicado pelos custos da permanência no coro durante longos períodos, levando a uma redução na massa corpórea, ao contrário de animais que gastam menos energia, como flutuante ou satélite, que permanecem por poucas noites no coro e apresentam melhor condição corporal. Esse padrão já foi

observado para algumas espécies da família (WOGEL et al., 2006; DE CARVALHO et al., 2008; DIAS et al., 2014).

Um fato que deve ser levado em consideração é que não foram observados todos os eventos reprodutivos durante o período do estudo e levar em consideração que desovas encontradas nos territórios dos machos territorialistas, poderiam tanto ser dos machos dominantes quanto de machos efêmeros. Cópulas triplas e até quádruplas já foram observadas na família (WOGEL et al., 2005; DIAS et al., 2012; DE OLIVEIRA, 2017) e provavelmente constituem uma estratégia evolutivamente estável adotada por visitantes efêmeros, aumentando chances de ter pelo menos alguns ovos fecundados. A possibilidade de desovas de machos efêmeros ocorrerem em territórios de machos territorialistas é uma hipótese que deve ser testada com testes de paternidade para saber exatamente qual o sucesso reprodutivo de indivíduos que adotam estratégias alternativas e elucidar possíveis vantagens relacionadas a múltiplas cópulas.

CONCLUSÃO

É possível sugerir que *Pithecopus azureus* adota um sistema de acasalamento do aglomerado, com defesa de recursos, visto que os indivíduos chegam de forma assíncrona no coro e que certos machos defendem territórios e recursos por um longo período de tempo. Tal defesa pode possivelmente ser importante para a sobrevivência dos ovos. Além disso, o padrão de manchas no flanco, cores e o canto reprodutivo não parecem conferir nenhuma vantagem na territorialidade de *P. azureus*. Mesmo assim, o padrão de manchas nos flancos de *Pithecopus*, uma característica com dicromatismo sexual descrito (Capítulo 1), talvez possa sinalizar a presença de machos territoriais e, possivelmente, também ser utilizado por machos territoriais para detecção de machos invasores. No entanto, chegada antecipada no território e a permanência no coro parecem representar as maiores vantagens no estabelecimento e manutenção de territórios e, possivelmente, garantem maior sucesso reprodutivo de indivíduos, como sugerido por Wogel e colaboradores (2004) para a espécie irmã, *P. rodhei*.

Esse estudo foi a primeira tentativa de entender padrões de territorialidade, estabelecimento e manutenção de territórios, através de análises das variáveis acústicas e visuais em uma espécie de Phyllomedusidae. Esse estudo abre um novo caminho para as pesquisas com comunicação bimodal em espécies arborícolas, de coloração conspícua e hábitos noturnos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRUNHOSA, P. A. e WOGEL, H. 2004. Breeding behavior of the leaf- frog *Phyllomedusa burmeisteri* (Anura: Hylidae). *Amphibia-Reptilia* 25: 125-135.
- ALTER, W. 2004. How, when, and where to perform visual displays : the case of the amazonian frog *Hyla parviceps*. *Herpetologica* 60: 420-429.
- ANDERSON, M. 1994. Sexual Selection in Animals. Monographs in Behavior and Ecology. Editora Princeton University. New Jersey, USA. 601 pags.
- ARAK, A. Sexual selection by male–male competition in natterjack toad choruses. *Nature* 306: 261 – 262.
- BEECHING, S. C. 1995. Colour pattern and inhibition of aggression in the cichlid fish *Astronotus ocellatus*. *Journal of Fish Biology* 47: 50-58.
- BERTOLUCU, J. 2002. Pedal luring in the leaf-frog *Phyllomedusa burmeisteri* (Anura, Hylidae, Phyllomedusinae). *Phyllomedusa* 1: 93-95.
- BIOACOUSTICS RESEARCH PROGRAM 2011. Raven Pro: Interactive Sound Analysis Software (Version 1.4) [Computer software]. Ithaca, NY: The Cornell Lab of Ornithology. Available from <http://www.birds.cornell.edu/raven>.
- BRIGGS, V. 2008. Mating patterns of red-eyed treefrogs, *Agalychnis callidryas* and *A. moreletii*. *Ethology* 114: 489-498.
- BUCHANAN, B. W. 1993. Effect of enhanced lighting on the behavior of nocturnal frogs. *Animal Behaviour* 45: 893-899.
- BRANDÃO, R. A., ÁLVARES, G. F. A., CREMA, A. e ZERBINI, G. L. 2009. Natural history of *Phyllomedusa centralis* Bokermann 1965 (ANURA: HYLIDAE: PHYLLOMEDUSINAE): Tadpoles and Calls. *South American Journal of Herpetology* 4: 1-8.
- CALDWELL, M. S., JOHNSTON, G. R., MCDANIEL, J. G., WARKENTIN, K. M. 2010. Vibrational signaling in the agonistic interactions of red-eyed treefrogs. *Current Biology* 20:1012-1017.

- CÂNDIDO, C. E. R. 2013. Biologia Reprodutiva de *Phyllomedusa oreades* Brandão, 2002 (Anura: Hylidae), uma espécie endêmica do Cerrado restrita a riacho de altitude. Dissertação de Mestrado em Ciências Florestais, Publicação do Departamento de Engenharia Florestal, Universidade de Brasília, DF, 47 pags.
- CARAMASCHI, U. 2006. Redefinição do grupo de *Phyllomedusa hypochondrialis*, com redescrição de *P. megacephala* (Miranda-Ribeiro, 1926), revalidação de *P. azurea* Cope, 1862 e descrição de uma nova espécie (Amphibia, Anura, Hylidae). *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro* 62: 159 – 179.
- COSTA, T. B., GUIMARÃES, L. D. e BASTOS, R. P. 2010. Territorial and mating behavior in *Phyllomedusa azurea* (Anura: Hylidae) at a temporary pond in west-central Brazil. *Phyllomedusa* 9: 99 - 108.
- CROTHERS, L., GERING, E. e CUMMINGS, M. E. 2011 Aposematic signal variation predicts male–male interactions in a polymorphic poison frog. *Evolution* 65:599 – 605
- CROTHERS, L. e CUMMINGS, M. E. 2015. A multifunctional warning signal behaves as an agonistic status signal in a poison frog. *Behavioral Ecology* 26: 560 – 568.
- DE LUNA, G., HÖDL, W. e AMÉZQUITA, A. 2010. Colour, size and movement as visual subcomponents in multimodal communication by the frog *Allobates femoralis*. *Animal Behaviour* 79: 739-745.
- DE OLIVEIRA, F. F. R., NOGUEIRA, P. A. G. e ETEROVICK, P. C. 2011. Natural history of *Phyllomedusa megacephala* (Miranda-Ribeiro, 1926) (Anura: Hylidae) in southeastern Brazil, with descriptions of its breeding biology and male territorial behavior. *Journal of Natural History* 46: 117-129.
- DE OLIVEIRA, F. F. R. 2017. Mating behaviour, territoriality and natural history notes of *Phyllomedusa ayeaye* Lutz, 1966 (Hylidae: Phyllomedusinae) in south-eastern Brazil. *Journal of Natural History* 00: 1 – 19.
- DIAS, T. M., MARAGNO, F. P., PRADO, C. P. A. e CECHIN, S. Z. 2014. Reproductive site selection in the leaf-frog *Phyllomedusa azurea* Cope, 1862 (Anura: Hylidae) in altered areas of the Brazilian Cerrado. *Journal of Natural History* 1-24.
- DUELLEMAN, E. W. e TRUEB, L. 1994. Biology of Amphibians. Editora The Johns Hopkins University. Baltimore, Maryland, USA. 670 pags.

- DUELLMAN, E. W., MARION, A. B. e HEDGES, S. B. 2016. Phylogenetics, classification, and biogeography of the treefrogs (Amphibia: Anura: Arboranae). *Zootaxa* 4104: 1- 109.
- DE CARVALHO, E. B., C. B., FARIA, R. G., BATISTA, R. C., BATISTA, C. C., COELHO, W. A. e BOCCHIGLIERI, A. 2008. Nicho ecológico e aspectos da história natural de *Phyllomedusa azurea* (Anura: Hylidae, Phyllomedusinae) no Cerrado do Brasil Central. *Biota Neotropica* 8: 101-109.
- DIK, D. A. V. e EVANS, C. S. 2007. Familiar-unfamiliar discrimination based on visual cues in the Jacky dragon, *Amphibolurus muricatus*. *Animal Behavior* 74: 33 – 34.
- FROST, D. R. 2017. Amphibian Species of the World: Uma Referência Online. Versão 6.0. Disponível em: <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA (acessado em Junho de 2017).
- FURTADO, R. e NOMURA, F. 2013. Visual signals or displacement activities? The function of visual displays in agonistic interactions in nocturnal tree frogs. *Acta Ethologica* 17: 9 – 14.
- GIASSON, L. O. e HADDAD, C. 2006. Social interactions in *Hypsiboas albomarginatus* (Anura: Hylidae) and the significance of acoustic and visual signals. *Journal of Herpetology* 40: 171 – 180.
- GREEN, A. J. 1990. Determinants of chorus participation and the effects of size, weight and competition on advertisement calling in the tungara frog, *Physalaemus pustulosus* (Leptodactylidae). *Animal Behaviour* 39: 620 – 638.
- HARTMANN, M. T., GIASSON, L. O. M., HARTMANN, P. A. e HADDAD, C. D F. B. 2005. Visual communication in Brazilian species of anurans from the Atlantic forest. *Journal of Natural History* 39: 1675 – 1685.
- HAGA, I. A., DE CARVALHO, T. R., DE ANDRADE, F. S. e GIARETTA, A. A. Advertisement and aggressive calls of *Pithecopus azureus* (Anura: Phyllomedusidae) from the border of Brazil and Paraguay. *Phyllomedusa* 16: 47-56.
- HÖDL, W. e AMÉZQUITA, A. 2001. Visual signaling in anuran amphibians. In: Anuran Communication. Editor M. J. Ryan. Editora Smithsonian Institution. Washington, EUA. Pags 121-141.

- JANSEN, M. e KÖHLER, J. 2008. Intraspecific combat behavior of *Phyllomedusa boliviana* (Anura: Hylidae) and the possible origin of visual signaling in nocturnal treefrogs. *Herpetological Review* 39: 290-293.
- KAUFMANN, J. 1983. On the definitions and functions of dominance and territoriality. *Biological Reviews* 58: 1 – 20.
- KÖHLER, J., JANSEN, M., RODRÍGUEZ, A., KOK, P. J. R., TOLEDO, L. F., EMMRICH, M., GLAW, F., HADDAD, C. F. B., RÖDEL, M. O. e VENCES, M. 2017. The use of bioacoustics in anuran taxonomy: Theory, terminology, methods and recommendations for best practice. *Zootaxa* 4251: 1-124.
- LINDQUIST, E. D., HETHERINGTON, T. E. 1996. Field studies on visual and acoustic signaling in the “earless” Panamanian golden frog, *Atelopus zeteki*. *Journal of Herpetology* 30: 347–354
- LLUSIA, D., MÁRQUEZ, R., BELTRÁN, J. F., MOREIRA, C. e DO AMARAL, J. P. 2013. Environmental and social determinants of anuran lekking behavior: intraspecific variation in populations at thermal extremes. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 67: 493 – 511.
- LOGUE, D. M., ABIOLA, I. O., RAINS, D., BAILEY, N. W., ZUK, M. e CADE, W. H. 2010. Does signalling mitigate the cost of agonistic interactions? A test in a cricket that has lost its song. *Proceedings Biological Sciences / The Royal Society* 277: 2571 – 2575.
- MORRIS, M. R., MUSSEL, M. e RYAN, M. J. 1994. Vertical Bars on Male *Xiphophorus multilineatus* a signal that deters rivals males and attracts females. *Behavioral Ecology* 6: 274 – 279.
- NARINS, P. M. e CAPRANICA, R. R. 1978. Communicative significance of the two-note call of the treefrog *Eleutherodactylus coqui*. *Journal of Comparative Physiology* 127: 1 – 9.
- PEIG, J. e GREEN, A. J. 2009. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: The scaled mass index as an alternative method. *Oikos* 118: 1883 – 1891.
- PRYKE, S. R. e ANDERSSON, S. 2003. Carotenoid-based epaulettes reveal male competitive ability: experiments with resident and floater red-shouldered widowbirds. *Animal Behaviour* 66: 217 – 224.

- QUINN, G. e KEOUGH, M. 2002. *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. Editora Cambridge University Press. Cambridge, UK. 537 pags.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM 2011. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, AU. Disponível em: <<http://www.R-project.org>>.
- SZTATECSNY, M., STRONDL, C., BAIERL, A., RIES, C. e HÖDL, W. 2010. Chin up: are the bright throats of male common frogs a condition-independent visual cue? *Animal Behaviour* 79: 779-786.
- ROBERTSON, J. 1986. Male territoriality, fighting and assessment of fighting ability in the Australian frog *Uperoleia rugose*. *Animal Behaviour* 34: 763 – 772.
- ROJAS, B. 2016. Behavioural, ecological, and evolutionary aspects of diversity in frog colour patterns. *Biological Reviews* 92: 1059-1080.
- RYAN, M. J. 1985. *The Tungara Frog: A Study in Sexual-Selection and Communication*. The University of Chicago Press. Chicago, USA. 230 pags.
- STAPLEY, J. E WHITING, M. J. 2006. Ultraviolet signals fighting ability in a lizard. *Biology Letters* 2: 169 – 172.
- TOLEDO, L. F. e HADDAD, C. F. B. 2009. Colors and some morphological traits as defensive mechanisms in anurans. *International Journal of Zoology* 2009: 1-12.
- TOLEDO, L. F. MARTINS, I., BRUSCHI, D. P., PASSOS, M. A., ALEXANDRE, C. e HADDAD, C. F. B. 2015. The anuran calling repertoire in the light of social context. *Acta Ethologica* 18: 87 – 99.
- VILAÇA, T. R. A., DOS SANTOS, J. R. e SOLÉ, M. 2011. Vocalization and territorial behaviour of *Phyllomedusa nordestina* Caramaschi, 2006 (Anura: Hylidae) from southern Bahia, Brazil. *Journal of Natural History* 45: 1823 – 1834.
- WELLS, K. 1977. The Social Behaviour of Anuran Amphibians. *Animal Behaviour* 25: 666 – 693.
- WELLS, K. 1978. Territoriality in the green frog (*Rana clamitans*): Vocalizations and agonistic behavior. *Animal Behaviour* 26: 1051-1061.
- WELLS, K. 2007. *The Ecology and Behavior of Amphibians*. The University of Chicago Press. Chicado. USA. 1148 pgs.

WHITING, M. J., STUART-FOX, D. M., O'CONNOR, D., FIRTH, D., BENNETT, N. C., BLOMBERG, S. P. 2006. Ultraviolet signals ultra-aggression in a lizard. *Animal Behaviour* 72: 353 – 363.

WOGEL, H., ABRUNHOSA, A. P. e POMBAL Jr. P. J. 2004. Vocalizations and aggressive behavior of *Phyllomedusa rohdei* (Anura, Hylidae). *Herpetological Review* 35: 239-243.

WEST-EBERHARD, M. J. 1983. Sexual selection, social competition and evolution. *The Quarterly Review of Biology* 58, 155–183.