

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Caracterização acústica de populações de *Leptodactylus fuscus* (Anura,
Leptodactylidae): Implicações taxonômicas

Gabriel Mestriner da Silva

Co-orientador: Dr. Thiago Ribeiro de Carvalho

Orientador: Dr. Ariovaldo Antonio Giaretta

Instituto de Biologia (INBIO)

Uberlândia – MG

Julho - 2018

Caracterização acústica de populações de *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae): Implicações Taxonômicas

Gabriel Mestriner da Silva¹

¹Laboratório de Taxonomia, Sistemática e Evolução de Anuros Neotropicais, Universidade Federal de Uberlândia/FAPIC, Ituiutaba, MG, Brasil. E-mail: Gabriel.mestriner93@gmail.com

²Laboratório de Herpetologia, Instituto de Biociências, Departamento de Zoologia, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP, Brasil.

Resumo

Leptodactylus fuscus, descrito do Suriname, no norte da América do Sul, possui ampla distribuição na região neotropical. Estudos moleculares detectaram variações genéticas relevantes entre populações, sugerindo-se que *L. fuscus* pudesse corresponder a três unidades evolutivas distintas: (1) populações do Panamá, escudo da Guiana e bacia amazônica brasileira; (2) outras regiões do Brasil e Argentina; e (3) Bolívia/Argentina. Em Anura, sinais acústicos estão fortemente envolvidos no reconhecimento de parceiros sexuais compatíveis, importante em mecanismos de especiação e seleção sexual. Neste estudo, caracterizamos acusticamente doze populações de *L. fuscus*, possivelmente correspondentes às três unidades evolutivas supracitadas com base em sua distribuição, a fim de reconhecer potencial congruência entre as linhagens genéticas e as vocalizações. Nossos resultados corroboram os três grupos genéticos, mostrando que a diferenciação genética em *L. fuscus* está sim acompanhada por diferenças acústicas entre esses grupos. As variáveis que foram mais determinantes para a discriminação foram a Duração do Canto, o Frequência Dominante e a Modulação de Frequência.

Palavras chaves: Acústica, canto de anúncio, *Leptodactylus fuscus*, caracterização acústica.

Introdução

Em Anura, o canto de anúncio está envolvido no de reconhecimento de parceiros, tendo importância em mecanismos pré-zigóticos de isolamento reprodutivo, de seleção sexual e especiação (Ryan, 1988). Informações sobre o canto de anúncio podem ser fundamentais na caracterização taxonômica de espécies de Anura, muitas vezes revelando padrões de riqueza subestimada em grupos com morfologia conservada (Köhler *et al.*, 2017; Wells, 1977, 2011). O gênero *Leptodactylus* corresponde a um grupo de anuros neotropicais de médio e grande porte, amplamente distribuídos do sul da América do Norte até o sul da América do Sul (De Sá *et al.*, 2014). Atualmente, *Leptodactylus* compreende cerca de 75 espécies descritas. O monofiletismo de *Leptodactylus* é bem suportado e a ocorrência franjas nas laterais dos artelhos e cristas longitudinais na região dorsal são exemplos de sinapomorfias do gênero (Heyer, 1968; De Sá *et al.*, 2014). O bom entendimento taxonômico sobre o gênero se deve aos vários trabalhos revisionais de W. Ron Heyer e colaboradores feitos desde o fim da década de 1960. Em 1969, Heyer reuniu as espécies em cinco grupos fenéticos essencialmente com base em morfologia e biologia reprodutiva: os grupos de *L. fuscus*, *L. marmoratus*, *L. melanonotus*, *L. ocellatus* (hoje *L. latrans*) e *L. pentadactylus*.

O grupo de *L. fuscus* como é geralmente caracterizado, entre outras características e a despeito de variação dentro do grupo, por possuir seis cristas longitudinais dorsolaterais, uma faixa clara na superfície posterior da coxa e uma faixa clara no lábio superior (Heyer, 1978). *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799), a espécie que dá nome ao grupo, foi descrita do Suriname, no Norte da América do Sul, e é tida como amplamente distribuída do Panamá, Colômbia e leste dos Andes até a Argentina, incluindo as ilhas de Margarita, Trinidad e Tobago (Heyer e Reid, 2003). *Leptodactylus*

fuscus pode ser identificada morfológicamente por possuir as seis cristas dorsolaterais, porém, pode não apresentar a faixa clara na superfície posterior da coxa. Indivíduos de *L. fuscus* raramente possuem tubérculos brancos na sola do pé e na superfície posterior do tarso, mas pequenas manchas claras estão presentes nessas superfícies, indicando a presença de tubérculos fracamente desenvolvidos (Heyer, 1978).

Leptodactylus fuscus (figura 1) acumula diversos problemas taxonômicos desde que foi descrito em 1799 por Schneider, originalmente como *Rana fusca* (Frost, 2017). O gênero *Leptodactylus* foi proposto por Fitzinger em 1826, baseado em três espécies: *Rana typhonia* Daudin, *Rana sibilatrix* Wied e *Rana mystacea*. Daudin (1803) listou uma série de nomes que eram sinônimos de *R. typhonia*, dentre eles *Rana marginata* Linnaeus, *Rana virginiana* Seba, *Rana virginica* Laurenti, *Rana fusca* Schneider. Após essas questões taxonômicas, o nome *L. fuscus* foi revalidado segundo as normas nomenclaturais zoológicas (Heyer, 1968).

A ampla distribuição de *L. fuscus* levanta questões sobre a sua identidade como unidade taxonômica singular. Estudos moleculares detectaram variações genéticas expressivas entre populações ao longo de sua distribuição, sendo sugerido que *L. fuscus* pudesse corresponder a três unidades evolutivas distintas divididas em i) populações do Panamá, ii) do norte do Rio Amazonas e iii) do sul do Rio Amazonas (Wynn & Heyer, 2001). Considerando-se 16 populações, Camargo et al. (2006) também detectaram significativa variação genética entre as populações de *L. fuscus*, incoerente com a idéia da unidade da espécie.

Para Camargo et al.(2006), molecularmente pode-se reconhecer três unidades evolutivas distintas: Camargo et al. (2006) chamou de “grupo A” as populações mais ao norte da América do Sul, correspondentes a Guiana Francesa, Panamá, Pará, Boa Vista, Igarapé, Cacoal, Normandia, Iacos, Arima, Tobago e Nariva ; de “grupo B” as

populações de Pernambuco, São Paulo e Joaquín Víctor González (Argentina) e como “grupo C” as populações de Palos Blancos e Beni na Bolívia, e Embarcación na Argentina.

Heyer (1978) analisou a variação morfológica existente entre diferentes populações de *L. fuscus*. Algumas das populações utilizadas por Heyer, são correspondentes a algumas das três unidades evolutivas recuperadas por Camargo *et al.* (2006). Com isso, constataram que evidências morfológicas indicam diferenciação entre populações localizadas nos extremos da distribuição geográfica da espécie: Panamá e Colômbia ao norte (em geral concordante com o grupo 1 de Camargo *et al.*, 2006), e Argentina ao sul (concordante com os grupos 2 e 3). Dentre as características mensuradas, o comprimento rostro-cloacal (CRC) e o comprimento da tíbia em relação ao CRC foram as que apresentaram maior variação entre os grupos, tanto para machos quanto para fêmeas. Fora isso, a morfologia de *L. fuscus* se apresentou muito conservada entre as demais populações. Dada a incongruência entre as bases de dados, foi sugerido que *L. fuscus* poderia compreender em um complexo de espécies em que a especiação teria ocorrido em caracteres que não estariam relacionados ao isolamento reprodutivo, como está o canto de anúncio (Camargo *et al.*, 2006), podendo estes estarem mais relacionados com caracteres não reprodutivos.

O trabalho sobre acústica realizado por Wynn & Heyer (2003) não encontrou variações acústicas expressiva entre as populações de *L. fuscus* estudadas, constatando que embora exista variação geográfica na vocalização, essa diversificação não corresponde à diferenciação genética de Wynn e Heyer (2001) ou à distância geográfica, sendo as diferenças observadas menores do que aquelas tipicamente encontradas entre espécies aparentadas de *Leptodactylus*. Nesse trabalho utilizaram amostragens do

Panamá, Colômbia, Trindade, Tobago, Suriname, Guiana Francesa, Amazônia, Pará, Mato Grosso, Rio Grande do Sul, Roraima, São Paulo, Bolívia, Paraguai e Argentina.

No presente trabalho analisei vocalizações referentes a diversas populações de *L. fuscus* a fim de avaliar o potencial das vocalizações na diferenciação de três das unidades evolutivas de base genética de Camargo *et al.* (2006). Dessa forma, reavaliei o canto com o intuito de encontrar padrões geográficos que podem implicar na taxonomia desta espécie, e expliquei as diferenças e similaridades do canto entre as populações.

Material e Métodos

Realizei a caracterização acústica de espécimes de diversas localidades brasileiras de *L. fuscus*. Para fins de comparação, os exemplares de foram classificados quanto pertencentes a três grupos de acordo com os grupos genéticos de Camargo *et al.* (2006) (grupos A, B e C, como definido acima).

Ao todo analisei cantos de 69 indivíduos que foram classificados como pertencentes ao: i) “grupo Amazônico-Norte” (Nor) que inclui sete indivíduos de Macapá – AP, e onze indivíduos de Cantá – RR ; ii) “grupo Não-Amazônico” cinco indivíduos de Andaraí – BA, um de Macaé – RJ, dezessete de Uberlândia – MG, seis de Ituiutaba – MG, um de Campinas – SP, um do Paraguai, dois de Aragoínas – TO e quatro de Palestina do Pará - PA ; e iii) “grupo Rondônia”, composto por quatro indivíduos de Costa Marques – RO e doze indivíduos de Cacoal – RO. Dados relativos à data de gravação dos cantos de cada indivíduo analisado neste trabalho, assim como sua localidade, horário da gravação e temperatura do ar do momento da gravação, estão listados no apêndice I.

Para as comparações com o trabalho de Heyer & Heid (2003), os espécimes por eles analisados foram agrupados de acordo com os grupos geográficos utilizados neste

trabalho, assim, calculei valores de parâmetros para variáveis de canto para esses agrupamentos.

Os cantos aqui analisados foram gravados com equipamentos profissionais: gravadores digitais (Marantz PMD 670 e 671, M-audio Microtrack II) e microfones direcionais Sennheiser (ME67/K6 e ME66/K6), ajustados para taxas de amostragem de 44,1 ou 48 kHz e 16 bits. As análises acústicas foram realizadas no programa Raven Pro 1.5, versão 64-bit, Bioacoustics Research Program, (2012). As variáveis acústicas analisadas e utilizadas estão listadas na Tabela 1. Os arquivos sonoros pertencem à Coleção de Arquivos Sonoros AAG-UFU, e estão listados no anexo 1. Para cada gravação, foi aplicado um filtro até 200 Hz (*high pass*) antes das análises a fim de reduzir ruídos de fundo (vento). Foi utilizado FFT de 256. De cada indivíduo medimos 20 notas (=cantos). As variáveis acústicas utilizadas seguem Kohler *et al.* (2017). Como *L. fuscus* possui expressiva modulação de frequência, a nota foi dividida em dez partes iguais (n = 10 cantos/indivíduo) com a função “selection generation” do Raven e utilizei, além do pico de frequência, os segmentos 3, 5 e 7 nas comparações multivariadas (abaixo). As figuras sonoras foram geradas no pacote Seewave da Plataforma R, versão 3.4.3 (R Development Core Team, 2011).

Eventuais discriminações entre populações foram buscadas pela aplicação da função “dapc” (Discriminant Analysis on Principal Componentes; pacote adegenet (Jombart, 2008, Jombart *et al.*, 2010)) em R (R Core Team, 2011). A DAPC depende da transformação de dados usando o PCA como uma etapa anterior a análise discriminante, o que garante que as variáveis submetidas a análise dos componentes não sejam correlacionadas. Esse método define um modelo no qual a variação do conjunto de dados é particionada em um componente entre grupos e dentro de um grupo, e produz variáveis

sintéticas que maximizam o primeiro enquanto minimiza o segundo (Jombart *et al.*, 2010).

As variáveis indicadas como importantes na discriminação das espécies pela DAPC foram testadas quanto à significância estatística das diferenças através do Teste Soma Exata de Posições de Wilcoxon Mann-Whitney usando o pacote “coin” (Hothorn *et al.*, 2008) em plataforma R. Como os testes foram feitos aos pares o valor de p foi corrigido com a função “p-adjust” (método holm) do R.



Figura 1. Machos adultos de *L. fuscus* em vida. (Acima) Pontal do Araguaia, Mato Grosso (grupo Não-Amazônico) (Meio) Cacoal, Rondônia, grupo Rondônia: (Abaixo) Cantá, Roraima, grupo Amazônico Norte.

Fotos: Ariovaldo A. Giaretta

Tabela 1. Variáveis acústicas utilizadas nas análises dos cantos de anúncio de *L. fuscus*. Modificado de Kohler et al. (2017).

Caracteres acústicos e unidades	Definição
Frequência máxima (Hz)	Maior frequência que ainda se encontra energia no canto
Frequência Mínima (Hz)	Menor frequência que ainda se encontra energia no canto
Frequência dominante (Hz)	Frequência onde se concentra a maior energia do canto
Duração do canto (ms)	Tempo decorrido do começo ao final da emissão de um canto
Tempo de pico (%)	Momento em que a frequência dominante é alcançada dentro do canto
Intervalo entre cantos (ms)	Tempo decorrido do final de um canto ao começo do próximo
Taxa de repetição de cantos (cantos/minuto)	Número de cantos emitidos por minuto
Modulacao de frequência	Razão entre a Frequência Dominante da décima porção do canto com a primeira porção
Segmento 3	Frequência Dominante da Terceira porção do canto
Segmento 5	Frequência Dominante da Quinta porção do canto
Segmento 7	Frequência Dominante da Sétima porção do canto

Resultados

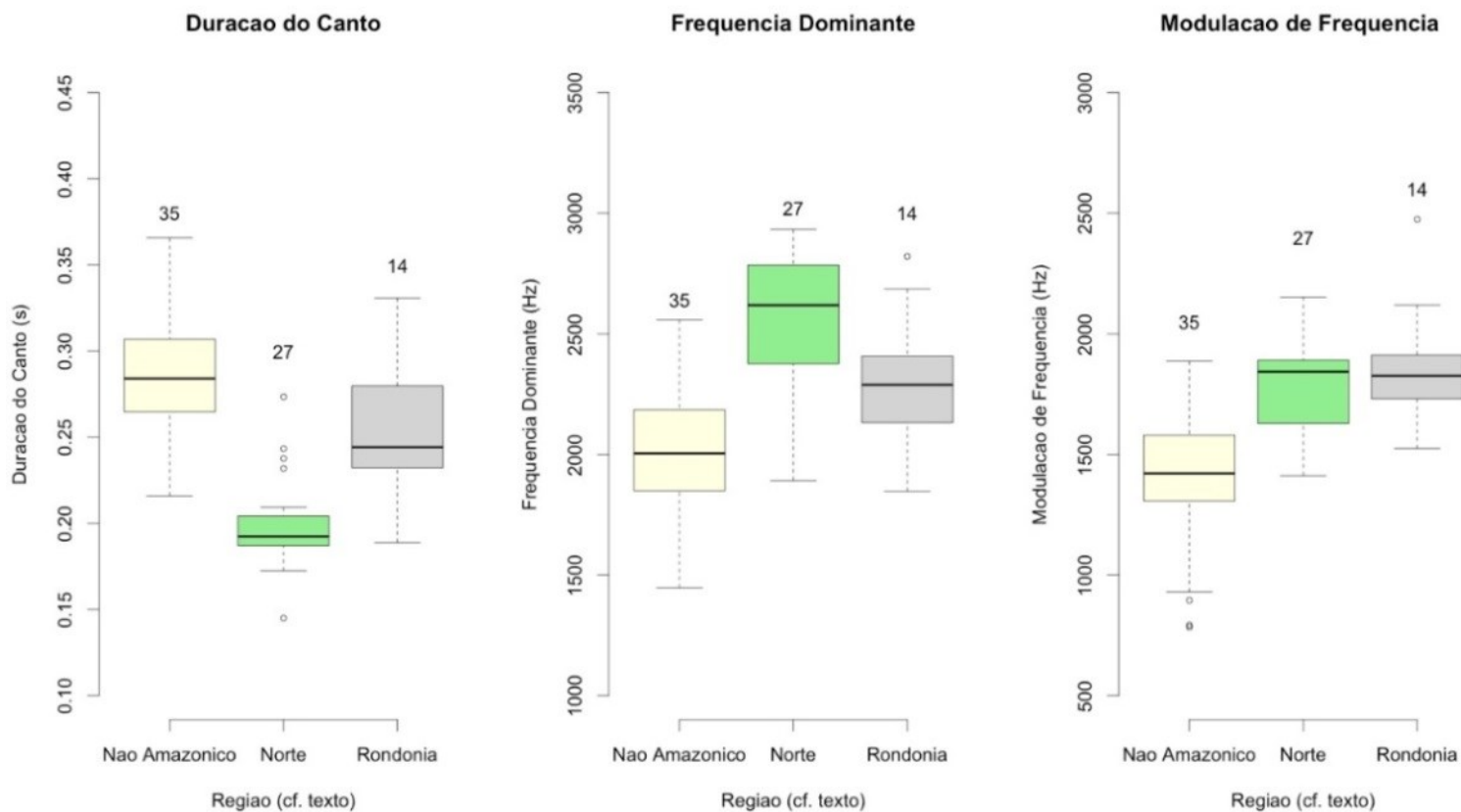
As figuras 4-6 mostram o padrão temporal e espectral do canto de um indivíduo de cada um dos grupos aqui considerados.

O canto de todas as populações analisadas corresponde a um assobio de frequência ascendente do início ao fim. O grupo Não-Amazônico apresentou cantos com duração de ca. de 0,30 segundos, frequência dominante de 2000 Hz e Modulação de Frequência de 1400 Hz. O grupo Amazônico-Norte apresentou a duração do canto com ca. de 0,20 segundos, frequência dominante de 2500 Hz e modulação de frequência de 1800 Hz. E para o grupo Rondônia a duração do canto foi de 0,25 segundos, frequência dominante de 2300 Hz e modulação de frequência de 1900 Hz.

As variáveis mais importantes para a discriminação dos cantos foram: Duração do Canto, Frequência Dominante e Modulação de Frequência (Figura 2). A análise Discriminante sobre Componentes Principais separou expressivamente o grupo Não-Amazônico do grupo Amazônico, com a amostra de Rondônia sendo intermediária entre as duas (Figura 3).

Em relação a frequência dominante, as diferenças foram significativas para todas as comparações: Amazônico-Norte \times Não Amazônico ($z = -5,60$; $p < 0,001$); Não-Amazônico \times Rondônia ($z = -3,28$; $p < 0,001$); e Amazônico-Norte e Rondônia ($z = 2,61$; $p < 0,001$). Quanto a duração do canto, as diferenças também foram significativas: Amazônico-Norte \times Não Amazônico ($z = 6,41$; $p < 0,001$); Não-Amazônico \times Rondônia ($z = 2,34$; $p < 0,001$); e Amazônico-Norte \times Rondônia ($z = -3,7$; $p < 0,001$). Já em relação a modulação, as diferenças somente não foram significativas em relação aos Amazônico-Norte e Rondônia ($z = -0,66$; $p = 0,52$), porém, significativo entre as outras comparações: Não-Amazônico \times Amazônico-Norte ($z = -5,11$; $p = < 0,001$); e Não-Amazônico e Rondônia ($z = -4,66$; $p < 0,001$).

Figura 2. Boxplot das três variáveis mais determinantes para a discriminação dos três grupos propostos neste trabalho: Não-Amazônico, Amazônico Norte e Rondônia.



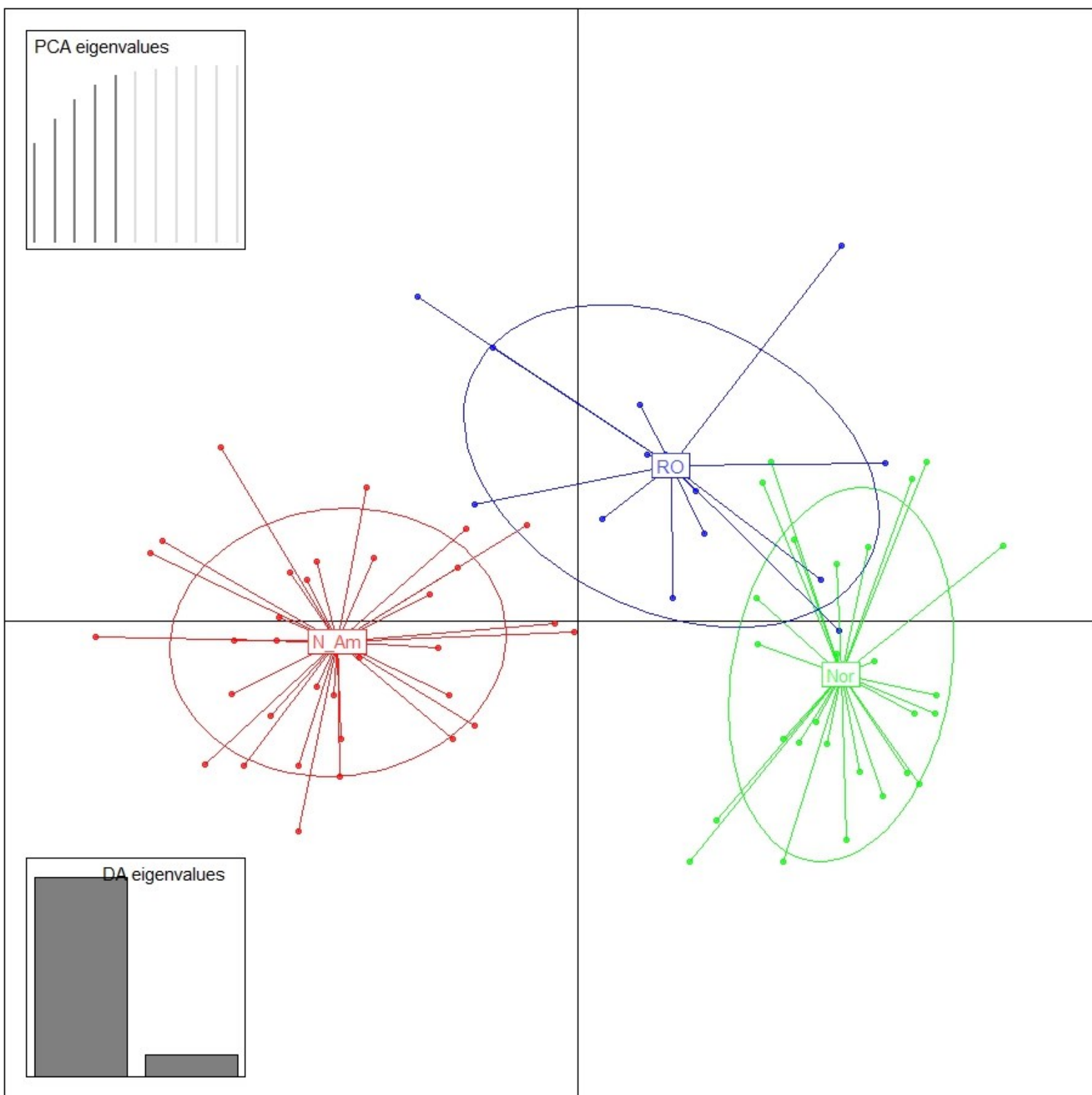


Figura 3. Diagrama de dispersão dos dois primeiros eixos da Análise de discriminante sobre componentes principais (DAPC) sobre as variáveis acústicas das três unidades evolutivas de *L. fuscus* propostas neste trabalho. N am: grupo Não Amazônico. RO: grupo Rondônia. Nor: grupo Amazônico Norte.

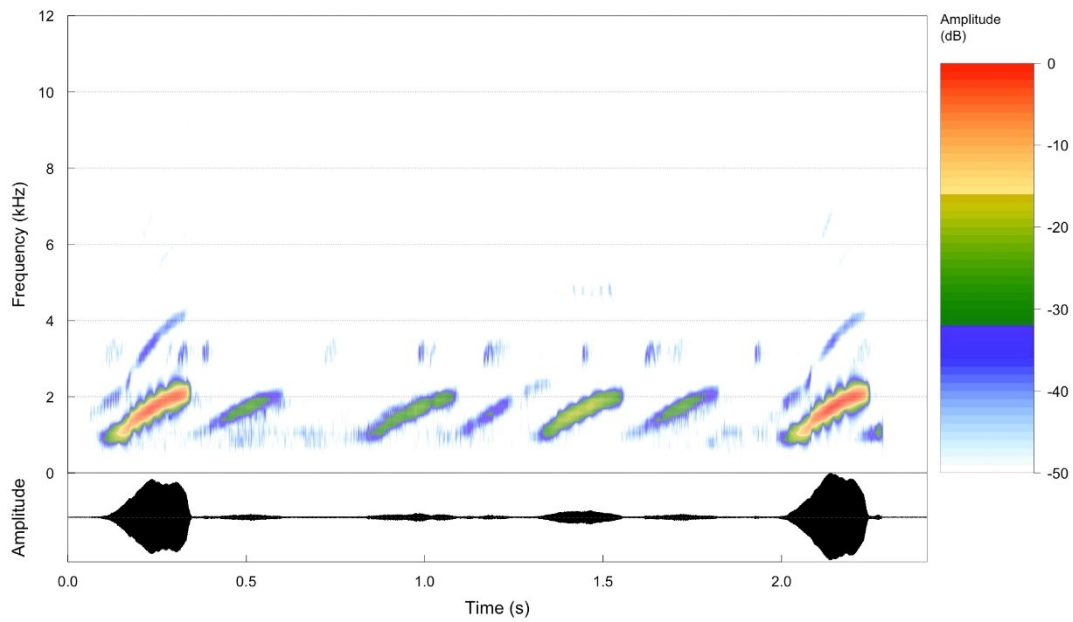


Figura 4. Espectrograma (acima) e Oscilograma (abaixo) de dois cantos de anúncio emitidos em sequência de um indivíduo de *L. fuscus* de Andaraí – BA, correspondente ao grupo Não-Amazônico.

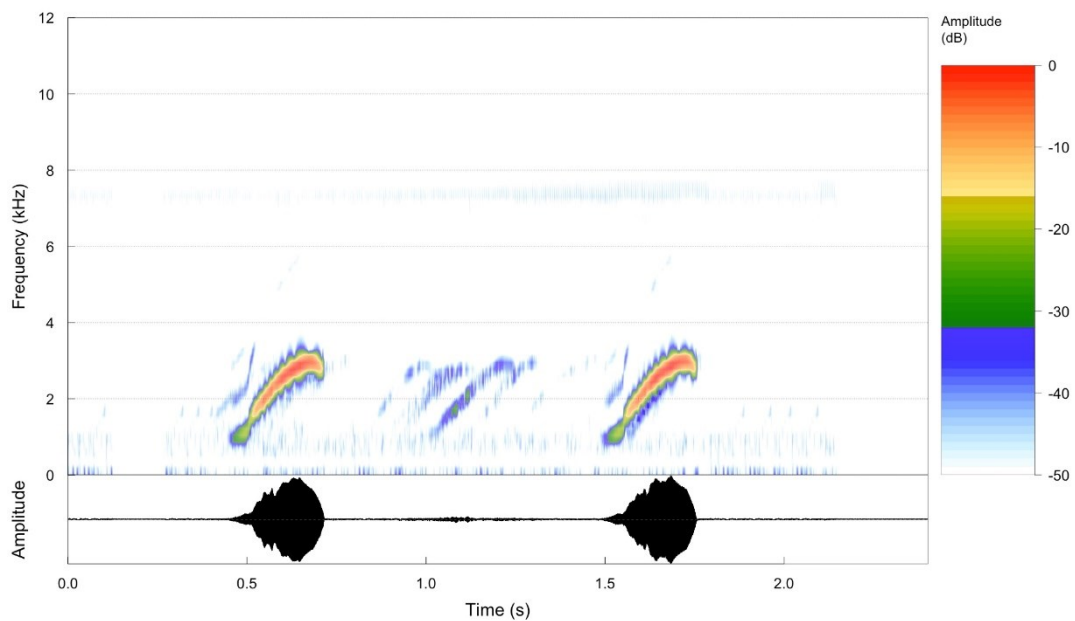


Figura 5. Espectrograma (acima) e Oscilograma (abaixo) do canto de anúncio de um indivíduo de *L. fuscus* de Cacoal – Rondônia, correspondente ao grupo Rondônia. Como acima.

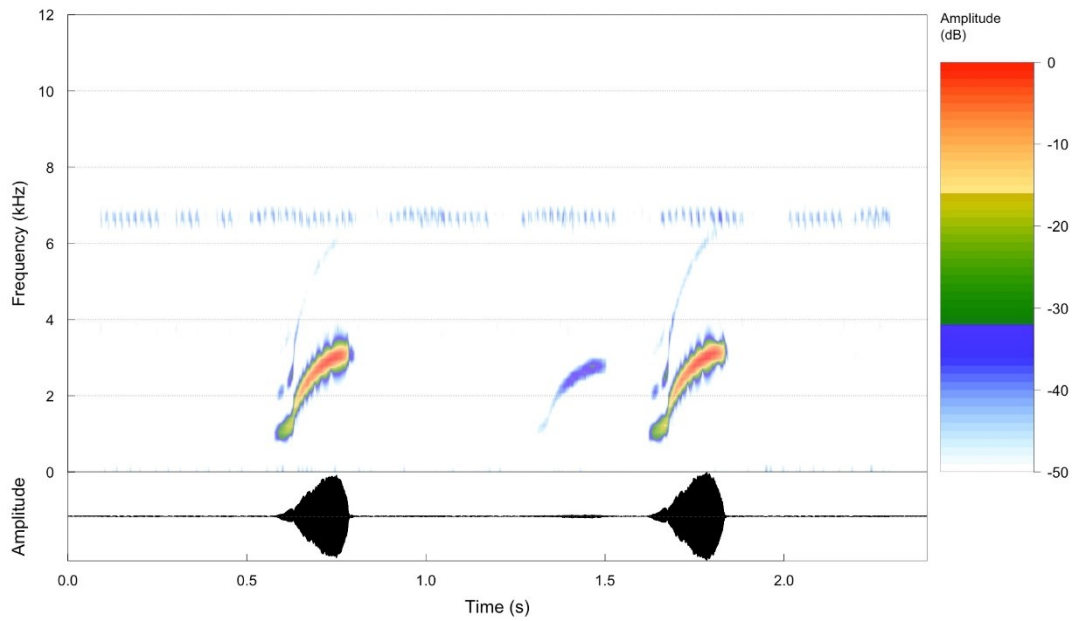


Figura 6. Espectrograma (acima) e Oscilograma (abaixo) do canto de anúncio de um indivíduo de *L. fuscus* de Cantá – RR, correspondente ao grupo Amazônico-Norte. Como acima.

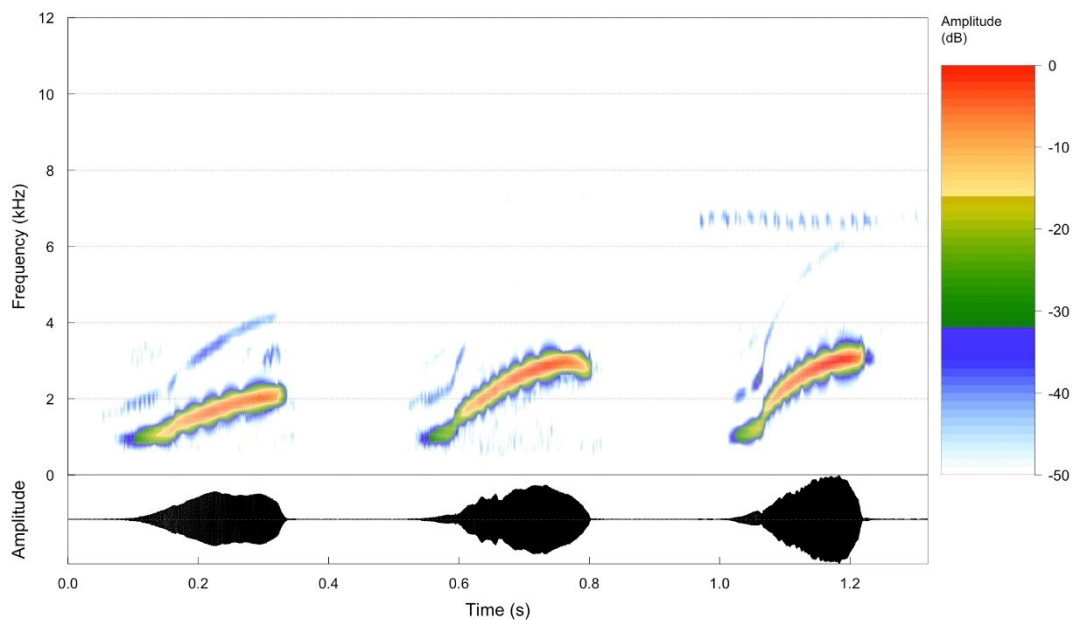


Figura 7. Espectrograma (acima) e Oscilograma (abaixo) correspondente a uma composição de forma a incluir o primeiro canto de cada uma das figuras 4-6. Bahia, Rondônia e Roraima, respectivamente.

Discussão

Os resultados sobre as variáveis de canto são semelhantes aos encontrados por Heyer & Reid (2003), principalmente no que diz respeito as duas variáveis que foram importantes na discriminação dos grupos, ou seja, duração do canto e a frequência dominante. Nesse trabalho (Heyer & Reid, 2003) utilizaram amostragens do Panamá, Colômbia, Trindade, Tobago, Suriname, Guiana Francesa, Amazônia, Pará, Mato Grosso, Rio Grande do Sul, Roraima, São Paulo, Bolívia, Paraguai e Argentina. Entretanto, para cada localidade o tamanho amostral de apenas um ou dois indivíduos por região/localidade.

As populações de Heyer & Reid (2003) que correspondem ao grupo Amazônico-Norte são de Boa Vista (RR), Panamá e Suriname, as quais têm duração do canto de ca. de 0,18 segundos (aqui 0,20) e de frequência dominante 2570 Hz (aqui 2600). As deles que correspondem ao grupo Não-Amazônico são do Rio Grande do Sul e de São Paulo, apresentando duração do canto de 0,23 segundos (0,29) e de frequência dominante de 2070 Hz (2000). Correspondendo ao grupo Bolívia, eles analisaram espécimes da Bolívia, Paraguai e Argentina, que tiveram média de duração de canto de 0,19 segundos (0,25) e frequência dominante maior (2555 Hz) (2300).

Diferentemente do encontrado por Heyer & Reid (2003), os resultados deste presente trabalho sobre vocalizações corroboram os três grupos com diferenciação genética de Camargo *et al.*, (2006). Atribuo tal discrepância ao maior tamanho amostral utilizado aqui, maior profundidade analítica (mais variáveis consideradas), melhores métodos analíticos (quantitativos) e melhor tecnologia de obtenção de cantos (digital x analógico). Dessa forma concluo que se tratam de três unidades evolutivas diferentes, existindo variação acústica entre as populações desses grupos.

Assim, os resultados aqui encontrados contradizem à afirmação de que *L. fuscus* poderia se tratar de um complexo de espécies em que o evento de especiação teria ocorrido em caracteres não relacionados ao isolamento reprodutivo (Camargo *et al.*, 2006), visto que encontramos variação em cantos de anúncio entre as populações de *L. fuscus* consideradas.

Porém, a melhora da resolução taxonômica das populações/espécies sob o nome de *L. fuscus* depende ainda de mais estudos, como o de morfologia, envolvendo tamanhos amostrais maiores e métodos de análises mais robustos do que aqueles até hoje empregados.

A diferenciação genética e acústica existente entre as unidades evolutivas do grupo Amazônico-Norte e Não-Amazônico podem ser um reflexo de barreiras geográficas naturais, como por exemplo a extensão e largura do Rio Amazonas, impedindo o fluxo de indivíduos de vários grupos de animais (De Castro Godinho & Fernando Rodrigues, 2018). Em relação ao grupo Rondônia, a distinção acústica encontrada em relação as duas outras partições podem estar relacionadas com um maior grau de parentesco dos indivíduos desta com as populações da Bolívia (grupo B de Camargo *et al.*, 2006) ou que ambas retiveram caracteres plesiomórficos que remetem a semelhanças.

Agradecimentos

Eduardo Campos, Victor H. Zaracho, Davi L. Bang, Felipe S. Andrade, Izadora C. V. de Freitas e Pedro Marinho que disponibilizaram gravações co-autoradas. A Universidade de Cornell, que disponibilizou gratuitamente o programa Raven Pro. O Suporte financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico (CNPq) e da

Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG). Uma bolsa de Iniciação Científica pelo CNPq. Ao meu amigo Darllan Vale, a minha família, em especial minha Mãe, Fernanda Aparecida Mestriner, ao Nelson Barbosa, e ao meu Avô, Miguel Alexandre. A minha namorada Luísa Prado, por todo o apoio, motivação e paciência.

Referências Bibliográficas

Archer, E. 2014. rfPermute: Estimate Permutation p-values for Random Forest Importance Metrics. R package version 1.6.1.

Bioacoustics Research Program. Raven Pro: *Interactive Sound Analysis Software*. The Cornell Lab of Ornithology, versão 1.4., Ithaca, New York. 2012.

Camargo, Arley; DE SA, Rafael O.; HEYER, W. Ronald. 2006. Phylogenetic analyses of mtDNA sequences reveal three cryptic lineages in the widespread neotropical frog *Leptodactylus fuscus* (Schneider, 1799) (Anura, Leptodactylidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, v. 87, n. 2, p. 325-341.

Caminer, Marcel A.; RON, S. 2014. Systematics of treefrogs of the *Hypsiboas calcaratus* and *Hypsiboas fasciatus* species complex (Anura, Hylidae) with the description of four new species. PenSoft Publishers LTD.

De Castro Godinho, M. B., & da Silva, F. R. (2018).. The influence of riverine barriers, climate, and topography on the biogeographic regionalization of Amazonian anurans. *Scientific reports*, v. 8, n. 1, p. 3427.

Frost, D R. *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. Version 5.4 (8 April 2010). Eletronic Database accessible at [http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibian/American Museum of Natural History](http://research.amnh.org/vz/herpetology/amphibian/American%20Museum%20of%20Natural%20History). New York, USA. Captured on 22 August 2010.

Heyer, W. Ronald. 1968. The proper name for the type-species of the genus *Leptodactylus*. *Copeia*, v. 1968, n. 1, p. 160-162.

Heyer, W. Ronald. 1969. The adaptive ecology of the species groups of the genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Evolution*, p. 421-428,.

Heyer, W. Ronald. 1978. Systematics of the fuscus group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). Natural History Museum of Los Angeles County.

Heyer, W. Ronald; REID, Yana R. 2003. Does advertisement call variation coincide with genetic variation in the genetically diverse frog taxon currently known as *Leptodactylus fuscus* (Amphibia: Leptodactylidae). *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 75, n. 1, p. 39-54.

Hothorn, T et al. 2008. Implementing a Class of Permutation Tests: The coin Package. *Journal of Statistical Software*, 28(8): 1-23.

Jombart, T et al. 2010. Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, 11: 94.

Jombart, Thibaut. 2008. Adegnet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, v. 24, n. 11, p. 1403-1405, 2008.

Koehler, Joern et al. 2017. The use of bioacoustics in anuran taxonomy: theory, terminology, methods and recommendations for best practice. *Zootaxa*, v. 4251, n. 1, p. 1-124.

Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2011. R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R ISBN 3-900051-07-0.

Ryan, J. 1988. Constraints and patterns in the evolution of anuran acoustic communication. *The evolution of the amphibian auditory system*, p. 637-677.

Sá, Rafael O. de et al. 2014. Systematics of the neotropical genus *Leptodactylus* Fitzinger, 1826 (Anura: Leptodactylidae): phylogeny, the relevance of non-molecular evidence, and species accounts. *South American Journal of Herpetology*, v. 9, n. s1, p. S1-S100.

Lynch, John D. 1971. Evolutionary relationships, osteology, and zoogeography of leptodactyloid frogs. Lawrence, University of Kansas.

Watters, Jessa L. et al. 2016. Review of morphometric measurements used in anuran species descriptions and recommendations for a standardized approach. *Zootaxa*, v. 4072, n. 4, p. 477-495.

Wells, Kentwood D. 2010. The ecology and behavior of amphibians. University of Chicago Press.

Wynn, A.; Heyer, W. R. 2001 Do geographically widespread species of tropical amphibians exist? An estimate of genetic relatedness within the neotropical frog *Leptodactylus fuscus* (Schneider 1799) (Anura Leptodactylidae). *Tropical Zoology*, v. 14, n. 2, p. 255-285.

Apêndice I: Arquivos sonoros da coleção de anuros AAG-UFU que representam a base de dados para a execução da presente proposta. A formatação tá uma zona...

Arquivos sonoros	Localidade	Data	Horário	Temperatura - Ar °C
Leptod_fuscusAndaraiBA2aAAGm671 / Leptod_fuscusAndaraiBA2bAAGm671	Andaraí - Bahia	27/11/2016	20:53	23°C
Leptod_fuscusAndaraiBA3aAAGm671	Andaraí - Bahia	27/11/2016	20:55	23°C
Leptod_fuscusAndaraiBA4aAAGm671	Andaraí - Bahia	27/11/2016	20:56	23°C
Leptod_fuscusAndaraiBA5aAAGm671	Andaraí - Bahia	27/11/2016	20:21	23°C
Leptod_fuscusAndaraiBA6aFSA_AAGm	Andaraí - Bahia	06/01/2016	22:52	26°C
Leptod_fuscusCantaRR1aAAGm671	Cantá - Roraima	26/08/2016	19:47	27°C
Leptod_fuscusCantaRR2aAAGm671	Cantá - Roraima	26/08/2016	21:04	27°C
Leptod_fuscusCantaRR3aAAGm671	Cantá - Roraima	26/08/2016	21:09	27°C
Leptod_fuscusCantaRR4aAAGm671	Cantá - Roraima	26/08/2016	21:10	27°C
Leptod_fuscusCantaRR5aAAGm671 / Leptod_fuscusCantaRR5bAAGm671	Cantá - Roraima	26/08/2016	21:36	27°C
Leptod_fuscusCantaRR6aAAGm671	Cantá - Roraima	26/08/2016	21:58	27°C
Leptod_fuscusCantaRR7aAAGm671	Cantá - Roraima	26/08/2016	21:58	27°C
Leptod_fuscusCantaRR8aAAGm671	Cantá - Roraima	26/08/2016	22:10	27°C
Leptod_fuscusCantaRR9aAAGm671	Cantá - Roraima	27/07/2016	21:47	27°C
Leptod_fuscusCantaRR10aAAGm671	Cantá - Roraima	27/07/2016	21:51	27°C
Leptod_fuscusCantaRR11aAAGm671	Cantá - Roraima	27/07/2016	21:54	27°C

Leptod_fuscusCostaMarquesRO1aFSA_AAGm671	Costa Marques - Rondônia	08/12/2016	20:25	27°C
Leptod_fuscusCostaMarquesRO2aDLB_AAGm670 / Leptod_fuscusCostaMarquesRO2bDLB_AAGm670	Costa Marques - Rondônia	11/01/2016	21:15	24°C
Leptod_fuscusCostaMarquesRO3aDLB_AAGm670 / Leptod_fuscusCostaMarquesRO3bDLB_AAGm670 / Leptod_fuscusCostaMarquesRO3cDLB_AAGm670	Costa Marques - Rondônia	11/01/2016	21:33	24°C
Leptod_fuscusItuiutabaMG1aFSA_AAGb / Leptod_fuscusItuiutabaMG1bFSA_AAGb / Leptod_fuscusItuiutabaMG1cFSA_AAGb	Ituiutaba – Minas Gerais	06/01/2016	22:52	26°C
Leptod_fuscusItuiutabaMG2aFSA_AAGb	Ituiutaba – Minas Gerais	23/10/2012	19:08	25°C
Leptod_fuscusItuiutabaMG3aFSA_AAGb / Leptod_fuscusItuiutabaMG3bFSA_AAGb	Ituiutaba – Minas Gerais	24/10/2012	18:34	27.5°C
Leptod_fuscusItuiutabaMG4aFSA_AAGb / Leptod_fuscusItuiutabaMG4bFSA_AAGb	Ituiutaba – Minas Gerais	24/10/2012	18:37	27.5°C
Leptod_fuscusItuiutabaMG5aIH_AAGmt	Ituiutaba – Minas Gerais	24/10/2012	18:45	27.5°C
Leptod_fuscusItuiutabaMG6aAAGm671	Ituiutaba – Minas Gerais	31/10/2014	19:00	31°C
Leptod_fuscusMacaerRJ1aTRC_AAGmt / Leptod_fuscusMacaerRJ1bTRC_AAGmt	Macaé – Rio de Janeiro	23/09/2011	20:19	21°C
Leptod_fuscusMacapaAP1aEC_AAGm671	Macapá - Amapá	25/03/2017	19:16	27°C
Leptod_fuscusMacapaAP2aEC_AAGm671	Macapá - Amapá	25/03/2017	19:20	27°C
Leptod_fuscusMacapaAP3aEC_AAGm671	Macapá - Amapá	25/03/2017	19:31	27°C
Leptod_fuscusMacapaAP4aEC_AAGm671	Macapá - Amapá	25/03/2017	19:41	27°C
Leptod_fuscusMacapaAP5aEC_AAGm671	Macapá - Amapá	25/03/2017	19:54	27°C
Leptod_fuscusMacapaAP7aAAGm661MK2	Macapá - Amapá	30/03/2017	21:26	29°C
Leptod_fuscusUberlandiaMG1aAAGb	Uberlândia - MG	10/12/2005	19:05	24.3°C
Leptod_fuscusUberlandiaMG2aAAGb	Uberlândia -MG	10/12/2005	18:30	27 °C

Leptod_fuscusUberlandiaMG3aAAGm	Uberlândia - MG	27/10/2006	18:40	27.2°C
Leptod_fuscusUberlandiaMG4aAAGmt	Uberlândia - MG	20/12/2008	20:27	23.3°C
Leptod_fuscusUberlandiaMG6aAAGm671	Uberlândia - MG	16/10/2011	19:00	22°C
Leptod_fuscusUberlandiaMG7aAAGm671	Uberlândia - MG	08/11/2014	19:50	27°C
Leptod_fuscusUberlandiaMG8aAAGm671.wav	Uberlândia - MG	05/11/2015	19:17	23°C
Leptod_fuscusUberlandiaMG9aAAGm671.wav	Uberlândia - MG	05/11/2015	19:23	23°C
Leptod_fuscusUberlandiaMG10aAAGm671.wav	Uberlândia - MG	05/11/2015	19:26	23°C
Leptod_fuscusUberlandiaMG11aAAGm671.wav	Uberlândia - MG	05/11/2015	19:32	23°C
Leptod_fuscusUberlandiaMG12aAAGm671.wav	Uberlândia - MG	05/11/2015	20:03	22°C
Leptod_fuscusUberlandiaMG13aAAGm671.wav	Uberlândia - MG	05/11/2015	20:07	22°C
Leptod_fuscusUberlandiaMG14aAAGm671.wav	Uberlândia - MG	05/11/2015	20:07	22°C
Leptod_fuscusUberlandiaMG15aAAGm671.wav	Uberlândia - MG	05/11/2015	20:19	22°C
Leptod_fuscusUberlandiaMG16aAAGm671.wav	Uberlândia - MG	05/11/2015	20:27	22°C
Leptod_fuscusUberlandiaMG17aAAGm671.wav	Uberlândia - MG	05/11/2015	20:27	22°C
Leptod_fuscusCacoalRO1aAAGm661MK2.wav	Cacoal - Rondônia	22/09/2017	20:06	25°C
Leptod_fuscusCacoalRO2aAAGm661MK2.wav	Cacoal - Rondônia	22/09/2017	20:20	25°C
Leptod_fuscusCacoalRO3aAAGm661MK2.wav	Cacoal - Rondônia	22/09/2017	20:50	24°C
Leptod_fuscusCacoalRO4aAAGm661MK2.wav	Cacoal - Rondônia	22/09/2017	21:03	24°C
Leptod_fuscusCacoalRO5aAAGm661MK2.wav	Cacoal - Rondônia	22/09/2017	21:52	24°C

Leptod_fuscusCacoalRO6aAAGm661MK2.wav	Cacoal - Rondônia	22/09/2017	21:06	24°C
Leptod_fuscusCacoalRO7aAAGm661MK2.wav	Cacoal - Rondônia	22/09/2017	00:47	24°C
Leptod_fuscusCacoalRO8aAAGm661MK2.wav	Cacoal - Rondônia	22/09/2017	22:06	24°C
Leptod_fuscusCacoalRO9aAAGm661MK2.wav	Cacoal - Rondônia	22/09/2017	21:54	24°C
Leptod_fuscusCacoalRO10aAAGm661MK2.wav	Cacoal - Rondônia	22/09/2017	21:54	24°C
Leptod_fuscusCacoalRO11aAAGm661MK2.wav	Cacoal - Rondônia	05/11/2015	19:06	23°C
Leptod_fuscusCacoalRO12aAAGm661MK2.wav	Cacoal - Rondônia	06/01/2016	22:52	26°C
Leptod_fuscusAragominasTO1aTRC_AAGm670	Aragominas - Tocantins	11/01/2018	19:09	25°C
Leptod_fuscusAragominasTO2aTRC_AAGm670	Aragominas - Tocantins	11/01/2018	19:11	25°C
Leptod_fuscusCampinas1aIAH_AAGmt	Campinas – São Paulo	03/12/201	20:54	21°C
Leptod_fuscusPalestinaPA1aAAGm661MK2	Palestina - Pará	08/01/2017	18:47	27°C
Leptod_fuscusPalestinaPA2aAAGm661MK2	Palestina - Pará	08/01/2017	18:48	27°C
Leptod_fuscusPalestinaPA3aAAGm661MK2	Palestina - Pará	08/01/2017	18:53	27°C
Leptod_fuscusPalestinaPA4aAAGm661MK2	Palestina - Pará	08/01/2017	18:56	27°C
Leptodactylus_fuscus_VHZ-MT2_283a_voucher_Morombi_file0437	Zaracho – Paraguai	Sem informação	Sem dados	Sem dados

Nota de rodapé:

Este trabalho de monografia segue o formato da revista científica “Phyllomedusa – Journal Of Herpetology”. Instruções aos autores sobre a formatação estão disponíveis no seguinte endereço de web: <http://www.phyllomedusa.esalq.usp.br/instruction.pdf>.