



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO
MESTRADO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO

MARCOS ADELINO ALMEIDA FILHO

**O QUE AS RÃS FÊMEAS PROCURAM NOS MACHOS? O CANTO DE ANÚNCIO
NÃO REFLETE O INVESTIMENTO GONADAL E O ARMAZENAMENTO DE
GORDURA EM *Physalaemus albifrons* NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO**

MOSSORÓ

2023

MARCOS ADELINO ALMEIDA FILHO

**O QUE AS RÃS FÊMEAS PROCURAM NOS MACHOS? O CANTO DE ANÚNCIO
NÃO REFLETE O INVESTIMENTO GONADAL E O ARMAZENAMENTO DE
GORDURA EM *Physalaemus albifrons* NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação da Universidade Federal Rural do Semi-Árido como requisito para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

Linha de Pesquisa: Ecologia e Conservação de Ecossistemas Terrestres

Orientador: Prof. Dr. Daniel Cunha Passos
Co-orientadora: Profa. Dra. Milena Wachlevski Machado

MOSSORÓ

2023

© Todos os direitos estão reservados a Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996 e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata. A mesma poderá servir de base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) sejam devidamente citados e mencionados os seus créditos bibliográficos.

F478q Filho, Marcos Adelino Almeida.

O que as rãs fêmeas procuram nos machos? O canto de anúncio não reflete o investimento gonadal e o armazenamento de gordura em *Physalaemus albifrons* no semiárido brasileiro / Marcos Adelino Almeida Filho. - 2022.
28 f. : il.

Orientador: Daniel Cunha Passos.
Coorientadora: Milena Wachlevski Machado.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação, 2022.

1. Vocalização. 2. Seleção sexual. 3. Sucesso reprodutivo. 4. Testículos. 5. Corpo de gordura.
I. Passos, Daniel Cunha, orient. II. Machado, Milena Wachlevski, co-orient. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada por sistema gerador automático em conformidade com AACR2 e os dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Biblioteca Campus Mossoró / Setor de Informação e Referência
Bibliotecária: Keina Cristina Santos Sousa e Silva
CRB: 15/120

O serviço de Geração Automática de Ficha Catalográfica para Trabalhos de Conclusão de Curso (TCC's) foi desenvolvido pelo Instituto de Ciências Matemáticas e de Computação da Universidade de São Paulo (USP) e gentilmente cedido para o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido (SISBI-UFERSA), sendo customizado pela Superintendência de Tecnologia da Informação e Comunicação (SUTIC) sob orientação dos bibliotecários da instituição para ser adaptado às necessidades dos alunos dos Cursos de Graduação e Programas de Pós-Graduação da Universidade.

MARCOS ADELINO ALMEIDA FILHO

O QUE AS RÃS FÊMEAS PROCURAM NOS MACHOS? O CANTO DE ANÚNCIO NÃO
REFLETE O INVESTIMENTO GONADAL E O ARMAZENAMENTO DE GORDURA
EM *Physalaemus albifrons* NO SEMIÁRIDO BRASILEIRO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Ecologia e Conservação da
Universidade Federal Rural do Semi-Árido
como requisito para obtenção do título de
Mestre em Ecologia e Conservação.

Linha de Pesquisa: Ecologia e Conservação de
Ecossistemas Terrestres

Defendida em: 31 / 03 / 2022.

BANCA EXAMINADORA

Daniel Passos Location: Mossoró
Date: 2023-03-06 11:58:07

Prof. Dr. Daniel Cunha Passos
(Universidade Federal Rural do Semi-Árido)
Presidente

Prof. Dr. Leonardo Fernandes França
(Universidade Federal Rural do Semi-Árido)
Membro Examinador Interno

Prof. Dr. Paulo Nogueira Costa
(Universidade Federal do Sul e Sudeste do Pará)
Membro Examinador Externo

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente à minha família, que nestes pessoalmente árduos dois anos de mestrado, me demonstraram a importância da união e magnitude de uma família e a força para superar os piores momentos e situações que possam acontecer na vida. E mesmo em muitos momentos sem entenderem meus propósitos, buscaram me apoiar e estar ao meu lado.

Ao meu namorado Samuel Ferreira, por todos os momentos de conversa, apoio, paciência, motivação, companheirismo e incentivo.

Aos meus amigos particulares por me incentivarem, celebrarem minhas conquistas e sempre agirem de forma afetuosa, companheira e amigável.

Aos amigos e colegas Biólogos formados e em formação do Grupo de Discussão em Herpetologia – GDH da Universidade Estadual do Ceará e do Museu Cearense de História Natural Prof. Dias da Rocha, por toda a dedicação, esforço e ajuda nas coletas pilotos.

À toda a equipe do Laboratório de Ecologia e Comportamento Animal – LECA da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, por proporcionar suporte e meios viáveis para o desenvolvimento da pesquisa, em especial à Pamella Soares, responsável principal pelos dados disponibilizados para a realização da dissertação e por toda a ajuda em laboratório e dúvidas. E as demais pesquisadoras do LECA que participaram das coletas e processamento de dados, Graziella Mâcedo, Anyssa Oliveira e Maria Eduarda Lima.

Aos meus orientadores Daniel Passos e Milena Wachlevski. Acima de tudo agradeço pelas orientações e ensinamentos, que são extremamente valiosas, por sempre estimularem o pensamento crítico e científico. E também pela confiança, paciência, compreensão e persistência nos meus momentos de vulnerabilidade e contextos adversos de pandemia.

Aos professores Leonardo Fernandes França e Paulo Nogueira Costa por terem aceitado compor a banca de dissertação e contribuir com a análise e melhoria do trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES pela bolsa de incentivo e financiamento; à UFERSA, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação e corpo docente, por proporcionar a estrutura, ensinamentos e oportunidades necessárias para o meu desenvolvimento pessoal, profissional e da presente pesquisa.

RESUMO

O canto de anúncio em anuros pode fornecer informações honestas sobre a qualidade do macho emissor e ser utilizado pelas fêmeas para selecionar os parceiros reprodutivos. Alguns atributos dos machos, como o tamanho corpóreo, tendem a ser relacionados com parâmetros acústicos e podem ser revelados para as fêmeas através do canto de anúncio. No entanto, apesar de testículos maiores propiciarem maior produção de espermatozoides e corpos de gordura mais pesados viabilizarem maiores atividades metabólicas, não se sabe como o investimento gonadal e a reserva energética estão relacionados com os parâmetros acústicos dos cantos. Neste trabalho, avaliamos a relação entre a performance acústica, a condição gonadal e o armazenamento de gordura na rã *Physalaemus albifrons*, testando a hipótese de que o canto de anúncio constitui um bom preditor da qualidade do macho em termos de investimento gonadal e reserva energética. Gravamos vocalizações de 45 machos de *P. albifrons* em lagoas temporárias em uma área semiárida de Caatinga durante os meses de fevereiro e março de 2020. Todos os espécimes foram coletados, eutanasiados, fixados e posteriormente medidos quanto ao comprimento rostro-cloacal, comprimento dos testículos e a massa dos corpos de gordura. Analisamos parâmetros temporais (duração do canto e taxa de repetição) e espectrais (frequência fundamental e frequência dominante) de 30 cantos de anúncio de cada macho. O comprimento testicular e a massa dos corpos de gordura não foram relacionados com nenhum dos parâmetros acústicos do canto de anúncio de *P. albifrons*. Nossos resultados evidenciaram que o investimento gonadal e a reserva de gordura dos machos de *P. albifrons* não são revelados às fêmeas através do canto de anúncio. Estes achados sugerem que a seleção de parceiros sexuais pelas fêmeas desta pequena rã neotropical, se existir, não ocorre a partir de propriedades individuais no desempenho vocal dos machos, contribuindo para o entendimento das estratégias reprodutivas de anuros em ambientes secos altamente sazonais.

Palavras-chave: Vocalização. Seleção sexual. Sucesso reprodutivo. Testículos. Corpo de gordura.

ABSTRACT

Advertisement calls in anurans can provide honest information about the quality of the emitting male and be used by females to select reproductive partners. Some attributes of males, such as body size, tend to be related to acoustic parameters and may be revealed to females through advertisement calls. However, although larger testis produce more sperm and heavier fat bodies enable more metabolic activities, it is not known how the gonadal investment and energy reserve are related to acoustic parameters of calls. In this work, we evaluated the relationship between acoustic performance, gonadal condition and fat body storage in the frog *Physalaemus albifrons*, testing the hypothesis that advertisement call is a good predictor of male quality in terms of gonadal investment and energetic reserve. We recorded vocalizations of 45 males of *P. albifrons* in temporary ponds in a semiarid Caatinga area during the months of february and march 2020. All specimens were collected, euthanized, fixed and later measured for snout-vent length, testes length and the mass of fat bodies. We analyzed temporal (song duration and repetition rate) and spectral (fundamental frequency and dominant frequency) parameters of 30 advertisement calls of each male. Testicular length and fat body mass were not related to any of the acoustic parameters of the advertisement call of *P. albifrons*. Our results showed that the gonadal investment and the fat reserve of males of *P. albifrons* are not revealed to females through the advertisement call. These findings suggest that selection of mates by females of this small neotropical frog, if occurs, does not operates by individual features of males vocal performance, contributing to the understanding of reproductive strategies of anurans in dry and highly seasonal environments.

Keywords: Vocalization. Sexual selection. Reproductive success. Testicles. Fat body.

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	9
2.	MATERIAL E MÉTODOS	11
2.1.	Área de estudo e espécie-modelo	11
2.2.	Procedimentos amostrais	13
2.3.	Análise de dados	14
3.	RESULTADOS	15
4.	DISCUSSÃO	15
	REFERÊNCIAS	18
	ANEXO A	26
	ANEXO B	27
	ANEXO C	28

ZOOLOGICAL SCIENCE

O que as rãs fêmeas procuram nos machos? O canto de anúncio não reflete o investimento gonadal e o armazenamento de gordura em *Physalaemus albifrons* no semiárido brasileiro

Título abreviado: Correlatos do canto de *P. albifrons*.

Área: *Biologia reprodutiva*

Marcos Adelino Almeida Filho¹, Pamella Bárbara Coutinho Soares¹; Milena Wachlevski ^{2*} & Daniel Passos^{1,2}

¹Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, CEP 596259-900, Mossoró, RN, Brasil

²Laboratório de Ecologia e Comportamento Animal, Departamento de Biociências, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Semi-Árido, CEP 596259-900, Mossoró, RN, Brasil

*Correspondência: milenawm@ufersa.edu.br

RESUMO

O canto de anúncio em anuros pode fornecer informações honestas sobre a qualidade do macho emissor, fornecendo às fêmeas indicadores para a seleção de parceiros reprodutivos. O tamanho corpóreo, por exemplo é geralmente relacionado com a frequência dominante dos cantos de anúncio dos machos. No entanto, ainda não está claro se e até que ponto os parâmetros de vocalização estão associados ao investimento gonadal e a reserva energética dos machos. No presente estudo, avaliamos o nível de relação entre desempenho acústico, condição gonadal e armazenamento de gordura na pequena rã neotropical *Physalaemus albifrons*, testando a hipótese de que o canto de anúncio é um bom preditor da qualidade dos machos em termos de investimento gonadal (comprimento testicular) e reserva energética (massa dos corpos de gordura). Ao contrário das nossas previsões, nem o comprimento dos testículos nem a massa dos corpos de gordura foram relacionados a qualquer um dos parâmetros acústicos dos cantos de anúncio de *P. albifrons*. Esses resultados indicam que o canto de anúncio de *P. albifrons* não forneceu à fêmea nenhuma informação confiável sobre o

investimento gonadal ou o armazenamento de energia dos machos. Assim, se as fêmeas de *P. albifrons* de fato selecionam parceiros sexuais com base no desempenho vocal dos machos, elas devem estar interessadas em características de qualidade além do tamanho do testículo ou das reservas de gordura. Nossos achados contribuem para a compreensão das estratégias reprodutivas dos anuros em ambientes sazonalmente secos.

Palavras-chave: Vocalização. Seleção sexual. Sucesso reprodutivo. Testículos. Caatinga. Corpo de gordura.

Introdução

Vocalizações são um dos principais modos de comunicação e interação social entre os anfíbios anuros, desempenhando um papel fundamental na seleção sexual e reprodução (Wells, 2007; Bee et al., 2010; Wilkins et al., 2013). No entanto, a emissão de vocalizações não é apenas um comportamento oneroso, em termos energéticos (Emerson e Hess, 2001; Wells, 2001) mas também expõe o indivíduo ao risco de predação e aquisição de parasitas (Ryan, 1988; Gerhardt e Bee, 2006; Madelaire et al., 2013). Isso significa que existe um trade-off entre os custos, os riscos e o sucesso da comunicação (Tárano, 2015). Em anuros, o canto de anúncio pode ser utilizado para atrair fêmeas durante o período reprodutivo, permitir o reconhecimento da espécie e como meio de resolver disputas com machos da mesma espécie, além de ser utilizado pela fêmea para selecionar potenciais parceiros (Ryan e Rand, 1993; Tárano e Herrera, 2003). A seleção de machos por fêmeas com base em seus atributos individuais tem a vantagem potencial de maximizar o sucesso reprodutivo do casal através, por exemplo, da fecundação de mais ovos ou da proteção da prole, dependendo da espécie (Cocroft e Ryan, 1995; Ryan e Rand, 2003; Valencia-Aguilar et al., 2020). Os parâmetros acústicos do canto de anúncio podem revelar certos atributos de bom desempenho (i.e. qualidade) dos machos, como o vigor dos indivíduos e a condição corporal (Emerson e Hess, 2001; Wells, 2001; Gerhardt e Huber, 2002). Por exemplo, os parâmetros temporais do canto

podem indicar um maior investimento energético (Wells, 2001). Esses parâmetros incluem cantos mais longos e taxas de repetição mais altas, que refletem maior vigor e potencial energético dos futuros parceiros (Ryan, 1988; Richardson et al., 2010; Schrodé, 2012). Por outro lado, os parâmetros espectrais do canto. Como a frequência dominante, que são mais dependentes da estrutura anatômica do emissor, costumam ser relacionados com o tamanho corpóreo, podendo ser utilizados pelas fêmeas para prever o tamanho do potencial parceiro reprodutivo (Marquez e Bosch, 2001). No entanto, a possível relação entre os parâmetros acústicos dos cantos de anúncio e outros atributos específicos do macho, como o seu investimento gonadal ou estoques de energia, ainda são pouco conhecidas.

A maturação testicular desempenha um papel fundamental na aptidão de anuros, estando associada ao desenvolvimento de características sexuais secundárias e influenciando o comportamento acústico e de corte (Muehlenbein e Bribiescas, 2005). Em espécies que apresentam competição espermática, nas quais os machos competem para fecundar os ovócitos de cada fêmea (Ball e Parker, 1998; Dunn et al., 2015), as pressões de seleção influenciam o tamanho dos testículos (Kusano et al., 1991; Byrne et al., 2002). Testículos maiores podem produzir maiores quantidades de espermatozoides, o que aumenta a probabilidade de fecundar um maior número de ovócitos (Emerson, 1997; Preston et al., 2003; Liao et al., 2011).

O sucesso reprodutivo dos anuros machos também pode ser influenciado pelo armazenamento de lipídios na forma de corpos de gordura (Fitzpatrick, 1976). Em ambientes altamente sazonais, espécies que vivem podem acumular reservas consideráveis de lipídios (Pereira et al., 2007; Jared et al., 2019) e, no início do período chuvoso, convertem esses estoques de energia na produção de gametas, seleção de sítios reprodutivos e emissão de vocalizações (Ryser, 1989; Zhou et al., 2008; Madelaire e Gomes, 2016). Nesse caso, os

machos com maiores testículos e maior massa de corpos de gorduras seriam parceiros mais valiosos, em termos de seu potencial reprodutivo.

Assumindo que os cantos de anúncio podem revelar honestamente as características dos machos (Gerhardt e Huber, 2002) e que as fêmeas podem selecionar características específicas de parceiros em potencial com base em seus cantos (Andersson e Iwasa, 1996; Richardson et al., 2010), é possível que os parâmetros acústicos dos cantos de anúncio também revelem a qualidade reprodutiva dos machos em termos de investimento gonadal e estocagem de gordura. Diante disso, avaliamos se e em que medida o desempenho acústico dos machos de uma pequena rã neotropical, *Physalaemus albifrons* (Spix, 1824), pode revelar informações sobre seu investimento testicular e estoques de gordura. Para isso, testamos a hipótese de que o canto de anúncio é um bom preditor da qualidade do macho em termos de produção de espermatozoides e armazenamento de gordura. Se isso for verdade, esperaríamos que machos com testículos mais compridos e com mais massa de corpos de gordura emitam cantos energeticamente mais custosos (maiores taxa de repetição, cantos mais longos e/ou frequências fundamental e dominante mais baixas).

Material e Métodos

Área de estudo e espécie-modelo

Este estudo foi desenvolvido no campus da Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFRSA (5°11'17''S, 37°20' 39''W), município de Mossoró, estado do Rio Grande do Norte, Brasil. A área de estudo está localizada no domínio da Caatinga e pertencente à ecorregião denominada Depressão Sertaneja Setentrional, que é coberta por um mosaico de Florestas Tropicais Sazonalmente Secas (Silva et al., 2017). O clima da região é quente e semiárido, correspondendo à categoria BSh na classificação de Köppen-Geiger (Alvares et al.,

2014), com temperaturas acima de 26°C, estação seca prolongada e chuvas irregulares, com precipitação anual em torno de 500– 800 mm (Silva et al., 2017).

O gênero *Physalaemus* inclui atualmente 50 espécies de anuros, distribuídas amplamente na América do Sul (Frost, 2021). *Physalaemus albifrons* é uma pequena rã (comprimento rostro-cloacal médio = 28 mm), que ocorre desde a porção norte do estado do Maranhão até o sul de Minas Gerais, nos domínios do Cerrado e Caatinga do centro e nordeste do Brasil (Frost, 2023). Seleccionamos *P. albifrons* como espécie-modelo para o presente estudo por ser uma das espécies de anuros mais abundantes e comuns na região, bem como por ser altamente tolerante à aproximação de observadores humanos, o que torna relativamente fácil encontrá-la, observar e capturar.

Os indivíduos de *P. albifrons* estiveram no semiárido brasileiro, onde podem permanecer enterrados por muitos meses antes do início da estação chuvosa, que coincide com o início do ano civil, permanecendo então ativos por três a cinco meses (Protázio et al., 2015; Jared et al., 2019). Durante seu período ativo, os machos podem ser encontrados vocalizando à noite, parcialmente submersos em lagoas temporárias ou descansando em macrófitas aquáticas, onde encontram fêmeas para se reproduzir em ninhos de espuma (Bokermann, 1966). Exceto pela descrição da espécie e algumas informações de estudos de assembleias de anuros (i.e. Oliveira et al., 2010; Protázio et al., 2019; Jared et al., 2019), não há dados disponíveis sobre a biologia reprodutiva de *P. albifrons*. Apesar disso, sua época de reprodução parece ser relativamente prolongada, com duração de dois meses ou mais (baseado em Wells, 2007; Castro, 2012).

Embora ainda não tenha sido encontrada evidência de seleção sexual epigâmica em *P. albifrons*, sabe-se que em anuros com reprodução prolongada, os pares são tipicamente formados através da seleção de machos vocalizadores pelas fêmeas, como já observado no congênere *Physalaemus kroyeri* (Reinhardt & Lütken, 1862) no semiárido brasileiro (Gally e

Zina, 2013). O repertório vocal de *P. albifrons* é conhecido apenas a partir do canto de anúncio, descrito por Bokermann (1966), redescrito por Pederassi et al. (2015), e revisado por Hepp e Pombal Jr. (2020).

Procedimentos amostrais

Realizamos a amostragem de machos de *P. albifrons* em sítios reprodutivos entre fevereiro e maio de 2020. Uma vez identificado um macho vocalizando, dois observadores se posicionaram a dois metros do macho-alvo e esperaram de um a quatro minutos para que o indivíduo se habituassem à sua presença, que correspondeu a continuidade ou reinício da atividade vocal. Os observadores então gravaram os cantos de anúncio do macho-alvo continuamente por dois minutos, a uma distância de um metro do macho vocalizador. Para isso, foi utilizado um gravador de áudio profissional Marantz PMD660 com um microfone unidirecional Sennheiser ME67, frequência de amostragem de 44,1 kHz e resolução de 16 bit. Depois de registrado, cada macho-alvo foi capturado e levado em saco plástico contendo ar e água para posterior processamento e análise no Laboratório de Ecologia e Comportamento Animal. Todos os procedimentos amostrais foram conduzidos de acordo com as normas éticas estabelecidas pela Resolução nº. 301/2012 do Conselho Federal de Biologia e foram autorizados pelo Instituto Chico Mendes de conservação da Biodiversidade através da licença de coleta nº 57169-1. Os espécimes coletados durante o presente estudo foram depositados na Coleção Herpetológica do Semiárido (CHSA) e as gravações das vocalizações foram depositadas na Coleção Audiovisual do Semiárido (CASA), ambas mantidas pela UFERSA em Mossoró (números de voucher em Texto Suplementar S1).

Análise de dados

Em laboratório, os indivíduos-alvo foram medidos para determinar o comprimento rostro-cloacal, comprimento dos testículos e massa do corpo de gordura. Os parâmetros morfométricos foram obtidos com paquímetro digital (resolução 0,01 mm) e os corpos de gordura foram pesados em balança de precisão (resolução 0,0001 g).

Analizamos 30 cantos de cada indivíduo-alvo, sendo 10 cantos iniciais, 10 centrais e 10 cantos finais de cada gravação ao longo de cada gravação de dois minutos. Cada canto foi classificado com base em dois parâmetros temporais – a taxa de repetição (cantos.min⁻¹) e a duração do canto (s) – e dois parâmetros espectrais – as frequências fundamental e frequência dominante (ambas em Hz). A taxa de repetição foi calculada dividindo-se o número total de cantos pela duração de cada gravação (dois minutos). As análises foram executadas no programa RavenPro 1.6 (Center For Conservation Bioacoustics 2019) com as seguintes configurações: window type = Hann, window size = 512 samples, 3 dB filter bandwidth = 124 Hz, overlap = 80%.

Para avaliar se o tamanho das gônadas e os estoques lipídicos dos machos de *P. albifrons* são preditos honestamente pelos parâmetros acústicos dos seus cantos de anúncio, realizamos duas regressões lineares múltiplas (RLM), uma tendo o comprimento testicular médio como variável resposta e outra a massa dos corpos de gordura como variáveis resposta. Cada modelo incluiu os quatro parâmetros acústicos (taxa de repetição, duração do canto, frequência fundamental e dominante) como variáveis preditoras, juntamente com o comprimento rostro-cloacal como covariável. Avaliamos preliminarmente o atendimento às premissas de normalidade e homoscedasticidade em cada modelo e assumimos nível de significância $\alpha = 0,05$ em todos os testes. Fornecemos as estatísticas descritivas como média $\pm$ um desvio padrão (mínimo e máximo). Executamos as análises e elaboramos os gráficos em ambiente R (R Core Team 2021).

Resultados

Coletamos informações de 45 machos de *P. albifrons*, tendo comprimento rostro-cloacal de $27,79 \pm 1,05$ mm (25,52 – 29,80 mm). Todos os indivíduos eram adultos, apresentando comprimento testicular de $2,27 \pm 0,34$ mm (1,28 – 3,04 mm). A maioria dos indivíduos ($n = 28$; 62%) possuía reservas lipídicas, sendo a massa dos corpos de gordura de $0,02 \pm 0,01$ g (0,01 – 0,06 g). Os cantos de anúncio foram compostos por um único tipo de nota harmônica, com modulação de frequência descendente (Figura 1), média da frequência dominante de $2864 \pm 259,2$ Hz (2196 – 3445 Hz), frequência fundamental $209,5 \pm 209,5$ Hz (158,2 – 216,6 Hz), duração da chamada de $0,28 \pm 0,04$ s (0,22 – 0,35 s) e taxa de repetição de $44 \pm 13,3$ cantos.min⁻¹ (18 – 79,5 cantos.min⁻¹).

O comprimento testicular não foi relacionado com nenhuma das variáveis preditoras acústicas (RLM – $F_{5,39} = 1,51$; $R^2 = 0,16$; $P = 0,21$; Tabela 1). A massa dos corpos de gordura foi influenciada apenas pelo comprimento rostro-cloacal ($t = 2,23$; $R^2 = 0,12$; $P = 0,03$), mas não tendo sido relacionada significativamente com nenhuma das variáveis acústicas (RLM – $F_{5,39} = 1,65$; $R^2 = 0,17$; $P = 0,17$; Tabela 2).

Discussão

Os parâmetros acústicos do canto de anúncio de *Physalaemus albifrons* não tiveram relação com o tamanho testicular e nem com a reserva energética dos machos. Em espécies com seleção epigâmica, as fêmeas usualmente selecionam seus parceiros reprodutivos com base em indicadores de qualidade dos machos que possam beneficiar a prole (Field e Klump, 2005), como é o caso dos parâmetros vocais dos cantos de anúncio em muitos anuros de reprodução prolongada (e.g. Tárrano e Herrera, 2003; Bernal et al., 2009). No entanto, muitas estratégias alternativas de reprodução são encontradas nos anuros, que usam outras

características para selecionar parceiros ou não envolvem a seleção ativa de parceiros por fêmeas (Reichert, 2013; Swierk e Langkilde, 2019).

Independente do desempenho acústico, anuros machos podem adotar muitas outras estratégias para aumentar seu sucesso reprodutivo (Wells, 2007). Em algumas espécies de anuros, os machos disputam ativamente o acesso à fêmea (*scramble competition*), com estas formando agregações para abordar fêmeas solitárias ou deslocar machos em amplexo (Greene e Funk, 2009; Swierk e Langkilde, 2019). Também pode ocorrer amplexos múltiplos (*sperm competition*), o que indica competição espermática, ou seja, competição entre machos pela capacidade de seus gametas fertilizarem os oócitos de uma fêmea (Prado e Haddad, 2003; Roberts e Byrne, 2011). Uma outra estratégia potencial está relacionada ao tempo disponível para o acasalamento (*chorus attendance*), em que as fêmeas chegam nos sítios de reprodução de forma assíncrona, enquanto os machos que passam mais tempo vocalizando terão maior chance de acasalar (e.g. Field e Klump, 2005).

Não observamos disputas físicas entre machos ou amplexos múltiplos que pudessem indicar a ocorrência de *scramble competition* ou *sperm competition* em *P. albifrons*. Por outro lado, dada a heterogeneidade espacial das chuvas na região estudada, e a variação observada na quantidade de gordura armazenada entre os indivíduos, não podemos descartar a possibilidade de que os machos de *P. albifrons* tenham passado uma quantidade variável de tempo nos sítios de reprodução (ou seja, *chorus attendance*).

Alternativamente, em anuros que vocalizam em grandes aglomerações reprodutivas como *P. albifrons*, o coro produzido pelos diferentes indivíduos, espécies e ambientes pode criar um alto nível de ruído de fundo, o que compromete a capacidade da fêmea de diferenciar os parâmetros acústicos de potenciais parceiros (Wollerman e Wiley, 2002; Tárano e Herrera, 2003). Diante disso, esses sistemas de acasalamento podem não apresentar nenhuma associação sistemática entre os parâmetros acústicos do canto e a qualidade dos atributos do

macho. Nesse caso, é possível que as fêmeas simplesmente acasalem com os machos mais próximos, sem necessariamente avaliarem a qualidade de seus cantos (Wells, 2007). Como as chuvas no domínio da Caatinga são baixas e imprevisíveis, os sítios são em sua maioria temporários e concentram grande número de machos vocalizando ao mesmo tempo. Esse contexto particular pode dar propensão para que fêmeas de *P. albifrons* acasalem oportunisticamente com os machos mais próximos, independentemente de seu desempenho acústico.

No geral, os resultados do presente estudo indicam que o investimento gonadal e as reservas de gordura dos machos de *P. albifrons* não são revelados às fêmeas através do canto de anúncio. Nesse caso, é possível que os machos dessa pequena rã neotropical sejam selecionados de acordo com o tempo em que estão envolvidos em agregações reprodutivas, ou que as fêmeas simplesmente acasalem com os machos fisicamente mais próximos delas. Em ambos os casos, essas descobertas indicam que, se as fêmeas de *P. albifrons* de fato selecionam parceiros sexuais com base no desempenho vocal dos machos, elas devem estar interessadas em características de qualidade além do tamanho do testículo ou das reservas de gordura. Isso contribui para a compreensão das estratégias reprodutivas dos anuros em ambientes secos altamente sazonais.

Materiais complementares

Texto Complementar S1: Números de comprovantes de espécimes de *Physalaemus albifrons* (Spix 1824) do município de Mossoró depositados na Coleção Herpetológica do Semiárido (CHSA.A) e as respectivas gravações de vocalizações (entre parênteses em negrito) abrigadas na Coleção Audiovisual do Semiárido (CASA), ambos localizados na Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

Referências

- Alvares, A, Stape JL, Sentelhas PC, Gonçalves JLM, Sparovek G (2014) Koppen's climate classification map for Brazil. *Meteorol Z* 22: 711-728.
- Andersson M, Iwasa Y (1996) Sexual selection. *Trends Ecol Evol* 11: 53-58.
- Ball MA, Parker GA (1998) Sperm-competition games: energy dependence and competitor numbers in the continuous-external-fertilization model. *Math Med Biol* 15: 87-96.
- Bee MA, Cook JM, Love EK, O'Bryan LR, Pettitt BA, Schrode K et al. (2010) Assessing acoustic signal variability and the potential for sexual selection and social recognition in boreal chorus frogs (*Pseudacris maculata*). *Ethology* 116: 564-576.
- Bernal XE, Akre KL, Baugh AT, Rand AS, Ryan MJ (2009) Female and male behavioral response to advertisement calls of graded complexity in túngara frogs, *Physalaemus pustulosus*. *Behav Ecol Sociobiol* 63: 1269-1279.
- Bokermann WCA (1966) Notas sobre três espécies de *Physalaemus* de Maracas, Bahia (Amphibia, Leptodactylidae). *Rev Bras Biol* 26: 253-259.
- Brasil (2012) Conselho Federal de Biologia. *Resolução nº 301, de dezembro de 2012*. Dispõe sobre os procedimentos de captura, contenção, marcação, soltura e coleta de animais vertebrados in situ e ex situ, e dá outras providências. CFBio, Brasília. URL: <https://www.crbio05.gov.br/imagens/legislacao/resolucao-no-301-de-8-de-dezembro-de-2012.pdf> Accessed on September 19th 2021.
- Byrne PG, Roberts JD, Simmons LW (2002) Sperm competition selects for increased testes mass in Australian frogs. *J Evolution Biol* 15: 347-355.
- Center For Conservation Bioacoustics (2019) Raven Pro: Interactive Sound Analysis Software. Version 1.6.1. The Cornell Lab of Ornithology, New York. URL: <http://ravensoundsoftware.com>

Cocroft RB, Ryan MJ (1995) Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs. *Anim Behav* 49: 283-303.

Dunn JC, Halenar LB, Davies TG, Cristobal-Azkarate J, Reby D, Sykes D et al. (2015) Evolutionary trade-off between vocal tract and testes dimensions in howler monkeys. *Curr Biol* 25: 2839-2844.

Emerson SB, Hess DL (2001) Glucocorticoids, androgens, testis mass, and the energetics of vocalization in breeding male frogs. *Horm Behav* 39: 59-69.

Emerson SB (1997) Testis size variation in frogs: testing the alternatives. *Behav Ecol Sociobiol* 41: 227-235.

Fitzpatrick LC (1976) Life history patterns of storage and utilization of lipids for energy in amphibians. *Am Zool* 16: 725-732.

Frield TWP, Klump GM (2005) Sexual selection in the lek-breeding European treefrog: body size, chorus attendance, random mating and good genes. *Anim Behav* 70: 1141-1154.

Frost, DR (2023) Amphibian species of the world: An online reference. Version 6.1

(January, 19, 2023). Electronic Database accessible at

<https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>. American Museum of Natural History, New York, USA. doi.org/10.5531/db.vz.0001

Gally MC, Zina J (2013) Reproductive behaviour of *Physalaemus kroyeri* (Anura: Leiuperidae) in the municipality of Jequié, state of Bahia. *J Nat Hist* 47: 1627-1644.

Gerhardt HC, Huber F (2002) Acoustic communication in insects and anurans – common problems and diverse solutions. University of Chicago Press, Chicago and London.

Gerhardt HC, Bee MA (2006) Recognition and localization of acoustic signals. In: Narins PM, Feng AS, Fay RR, Popper AN. Hearing and sound communication in amphibians. Springer, New York.

- Greene AE, Funk WC (2009) Sexual selection on morphology in an explosive breeding amphibian, the Columbia Spotted Frog (*Rana luteiventris*). *J Herpetol* 43: 244-251.
- Hepp F, Pombal Jr. PJ (2020) Review of bioacoustical traits in the genus *Physalaemus* Fitzinger, 1826 (Anura: Leptodactylidae: Leiuperinae). *Zootaxa* 4725: 1-106.
- Jared C, Mailho-Fontana PL, Mendelson J, Antoniazzi MM (2019) Life history of frogs of the Brazilian semi-arid (Caatinga), with emphasis in aestivation. *Acta Zool* 101: 302-310.
- Kusano T, Toda M, Fukuyama K (1991) Testis size and breeding system in Japanese anurans with special reference to large testes size in the tree frog *Rhacophorus arboreus*. *Behav Ecol Sociobiol* 29: 27-31.
- Liao WB, Ma J, Han X, Zhou CQ, Mi ZP, Lou SL et al. (2011) Relative testis size and mating systems in anurans: large testis in multiple-male mating in foam-nesting frogs. *Anim Biol* 61: 225-238.
- Madelaire CB, Silva RJ, Gomes FR (2013) Calling behavior and parasite intensity in treefrogs, *Hypsiboas prasinus*. *J Herpetol* 47: 450-455.
- Madelaire CB, Gomes FR (2016) Breeding under unpredictable conditions: Annual variation in gonadal maturation, energetic reserves and plasma levels of androgens and corticosterone in anurans from the Brazilian semi-arid. *Gen Comp Endocr* 228: 9-16.
- Marquez R, Bosch J (2001) Communication and mating in the midwife toads (*Alytes obstetricans* and *Alytes cisternasii*). In: Ryan MJ (Ed). *Anuran communication*. Washington D.C., Smithsonian Institution Press. pp.220-231
- Muehlenbein MP, Bribiescas RG (2005) Testosterone-mediated immune functions and male life histories. *Am J Hum Biol* 17: 527-558.
- Oliveira MIRR, Weber LN, Ruggeri J (2010) The Tadpole of *Physalaemus albifrons* (Spix, 1824) (Anura, Leiuperidae). *S Am J Herpetol* 5: 249-254.

- Pederassi J, Lima MSCS, Caramaschi U, Souza PDS, Santos MCDO, Silva IC (2015) Redescription of the advertisement call of *Physalaemus albifrons* (Spix, 1824) (Amphibia, Anura, Leptodactylidae). *Zootaxa* 3994: 449-450.
- Pereira IC, Navas CAI, Carvalho JE (2007) Biochemical adjustments of energy metabolism during dry season in *Pleurodema diplolister* (Anura/Leptodactylidae). *Comp Biochem Phys A* 148: S155.
- Prado CPA, Haddad CFB (2003) Testes size in leptodactylid frogs and occurrence of multile spawning in the genus *Leptodactylus* in Brazil. *J Herpetol* 37: 354-362.
- Preston BT, Stevenson IR, Pemberton JM, Coltman DW, Wilson K (2003) Overt and covert competition in a promiscuous mammal: the importance of weaponry and testes size to male reproductive success. *P R Soc B* 270: 633-640.
- Protázio AS, Albuquerque RL, Falkenberg LM, Mesquita DO (2015) Acoustic ecology of an anuran assemblage in the arid Caatinga of northeastern Brazil. *J Nat Hist* 49: 957-976.
- Protázio AS, Mesquita DO (2019) Niche partitioning between two *Physalaemus* species (Anura, Leptodactylidae) in semiarid Caatinga in Northeast Brazil. *North-West J Zool* 15: 157-167.
- R Core Team (2021) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Austria. URL <https://www.R-project.org>
- Reichert MS (2013) Visual cues elicit courtship signals in a nocturnal anuran. *Behav Ecol Sociobiol* 67: 265-271.
- Richardson C, Joly P, Léna JP, Plénet S, Lengagne T (2010) The challenge of finding a highquality male: A treefrog solution based on female assessment of male calls. *Behaviour* 147:1737-1752.
- Roberts JD, Byrne PG (2011) Polyandry, sperm competition, and the Evolution of anuran amphibians. *Adv Study Behav* 43: 1-53.

- Ryan MJ (1988) Energy, calling, and selection. *Am Zoolog* 28: 885-898.
- Ryan MJ, Rand AS (1993) Species recognition and sexual selection as a unitary problem in animal communication. *Evolution* 47: 647-657.
- Ryan MJ, Rand AS (2003) Sexual selection in female perceptual space: how female túngara frogs perceive and respond to complex population variation in acoustic mating signals. *Evolution* 57: 2608-2618.
- Ryser J (1989) Weight loss, reproductive output, and the cost of reproduction in the common frog, *Rana temporaria*. *Oecologia* 78: 264-268.
- Schrode KM, Ward JL, Vélez A, Bee MA (2012) Female preferences for spectral call properties in the western genetic lineage of Cope's gray treefrog (*Hyla chrysoscelis*). *Behav Ecol Sociobiol* 66: 1595-1606.
- Silva JMC, Leal IR, Tabarelli M (2017) Caatinga: the largest tropical dry forest region in South America. 1st Edn. Springer International Publishing, Amsterdam.
- Swierk L, Langkilde T (2019) Fitness costs of mating with preferred females in a scramble mating system. *Behav Ecol* 30: 658-665.
- Tárano Z, Herrera EA (2003) Female preferences for call traits and male mating success in the Neotropical frog *Physalaemus enesefae*. *Ethology* 109: 121-134.
- Tárano Z (2015) Choosing a mate in a cocktail party-like situation: the effect of call complexity and call timing between two rival males on female mating preferences in the túngara frog *Physalaemus pustulosus*. *Ethology* 121: 749-759.
- Valencia-Aguilar A, Zamudio KR, Haddad CFB, Bogdanowicz SM, Prado CPA (2020) Show me you care: female mate choice based on egg attendance rather than male or territorial traits. *Behav Ecol* 31: 1054-1064.
- Wells KD (2001) The energetics of calling frogs. In: Ryan MJ. *Anuran communication*. Smithsonian Institution Press, Washington D.C., USA. 45-60 pages.

Wells KD (2007) The ecology and behavior of amphibians. The University of Chicago Press, Chicago and London.

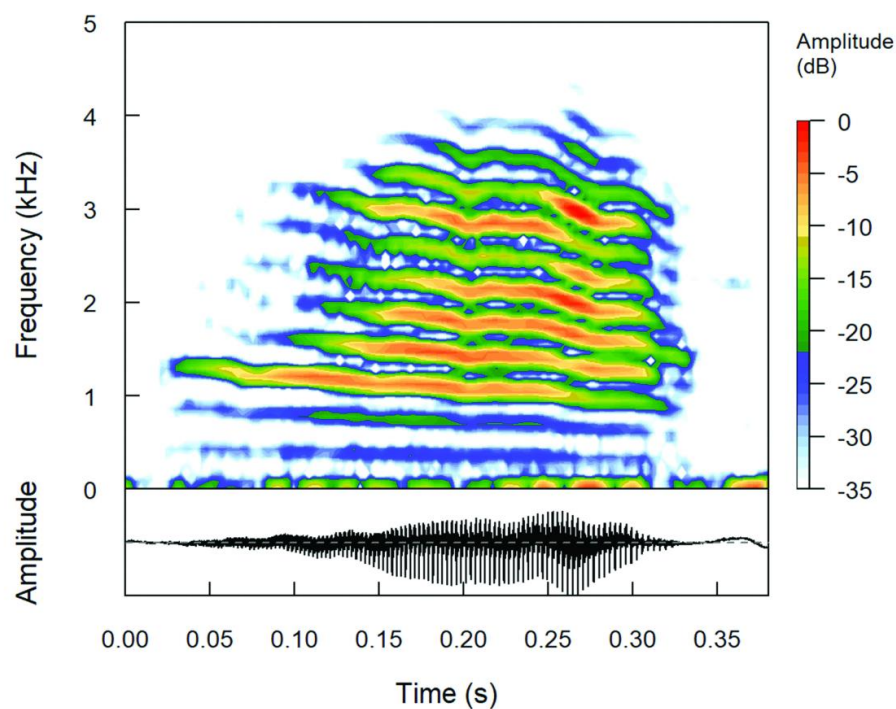
Wilkins MR, Seddon N, Safran RJ (2013) Evolutionary divergence in acoustic signals: Causes and consequences. Trends Ecol Evol 28: 156-166.

Wollerman L, Wiley RH (2002) Background noise from a natural chorus alters female discrimination of male calls in a Neotropical frog. Anim Behav 63: 15-22.

Zhou W, Li X, Wu JP, Li LF, Li MH (2008) Annual changes in reproductive and accompanying organs of *Rana chaochiaoensis* in the Kunming area. Zool Res 29: 89-94.

Legendas das figuras e legenda das tabelas

Figura 1. Espectrograma (acima) e oscilograma (abaixo) da nota harmônica típica do canto de anúncio dos machos de *Physalaemus albifrons* do município de Mossoró, estado do Rio Grande do Norte, nordeste do Brasil.



160x127mm (300 x 300 DPI)

Tabela 1. Resultados da regressão linear múltipla baseada no comprimento do testículo (variável resposta) dos machos de *Physalaemus albifrons* do município de Mossoró, estado do Rio Grande do Norte, nordeste do Brasil, com os parâmetros acústicos do canto de anúncio e do comprimento rostro-cloacal como as variáveis preditoras.

	Estimativa	Erro padrão	t-valor	P-valor
Intercepto	0.765	1.893	0.404	0.688
Taxa de repetição	-0.007	0.004	-1.689	0.099
Duração do canto	2.335	1.567	1.490	0.144
Frequência fundamental	-0.001	0.001	-0.161	0.873
Frequência dominante	0.000	0.000	-0.311	0.757
Comprimento rostro-cloacal	0.050	0.050	1.001	0.323

Tabela 2. Resultados da regressão linear múltipla baseada na massa de corpos gordurosos (variável resposta) dos machos de *Physalaemus albifrons* do município de Mossoró, estado do Rio Grande do Norte, nordeste do Brasil, com os parâmetros acústicos do canto de anúncio e o comprimento rostro-cloacal como variáveis preditoras. O asterisco indica uma associação significativa.

	Estimativa	Erro padrão	t-valor	P-valor
Intercepto	-0.163	0.085	-1.903	0.064
Taxa de repetição	0.001	0.000	0.840	0.405
Duração do canto	0.088	0.071	1.243	0.221
Frequência fundamental	0.000	0.000	0.735	0.467
Frequência dominante	0.000	0.000	-0.229	0.820
Comprimento rostro-cloacal	0.005	0.003	2.237	0.031*

Texto Suplementar S1. Números de representantes de espécimes de *Physalaemus albifrons* (Spix 1824) do município de Mossoró depositados na Coleção Herpetológica do Semiárido (CHSA.A) e os respectivos registros de vocalizações (entre parênteses em negrito) alojados na Coleção Audiovisual do Semiárido (CASA), ambos localizados na Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

CHSA.A 1271 (**CASA 179**), 1274 (**182**), 1283 (**191**), 1290 (**192**), 1291 (**193**), 1292 (**194**),
1296 (**197**), 1297 (**198-199**), 1301 (**201**), 1302 (**202**), 1304 (**203**), 1308 (**205**), 1309 (**206**),
1310 (**014**), 1311 (**207**), 1312 (**208**), 1313 (**209**), 1315 (**211**), 1316 (**212**), 1318 (**214**), 1319
(**215**), 1320 (**216**), 1321 (**217**), 1322 (**218**), 1323 (**219**), 1324 (**220**), 1325 (**221**), 1326 (**222**),
1327 (**223**), 1331 (**227**), 1332 (**228**), 1333 (**229**), 1334 (**230**), 1335 (**231**), 1337 (**233**), 1338
(**234**), 1342 (**237**), 1344 (**239**), 1345 (**240**), 1346 (**241**), 1347 (**242**), 1348 (**243**), 1349 (**244**),
1350 (**245**), 1351 (**246**).

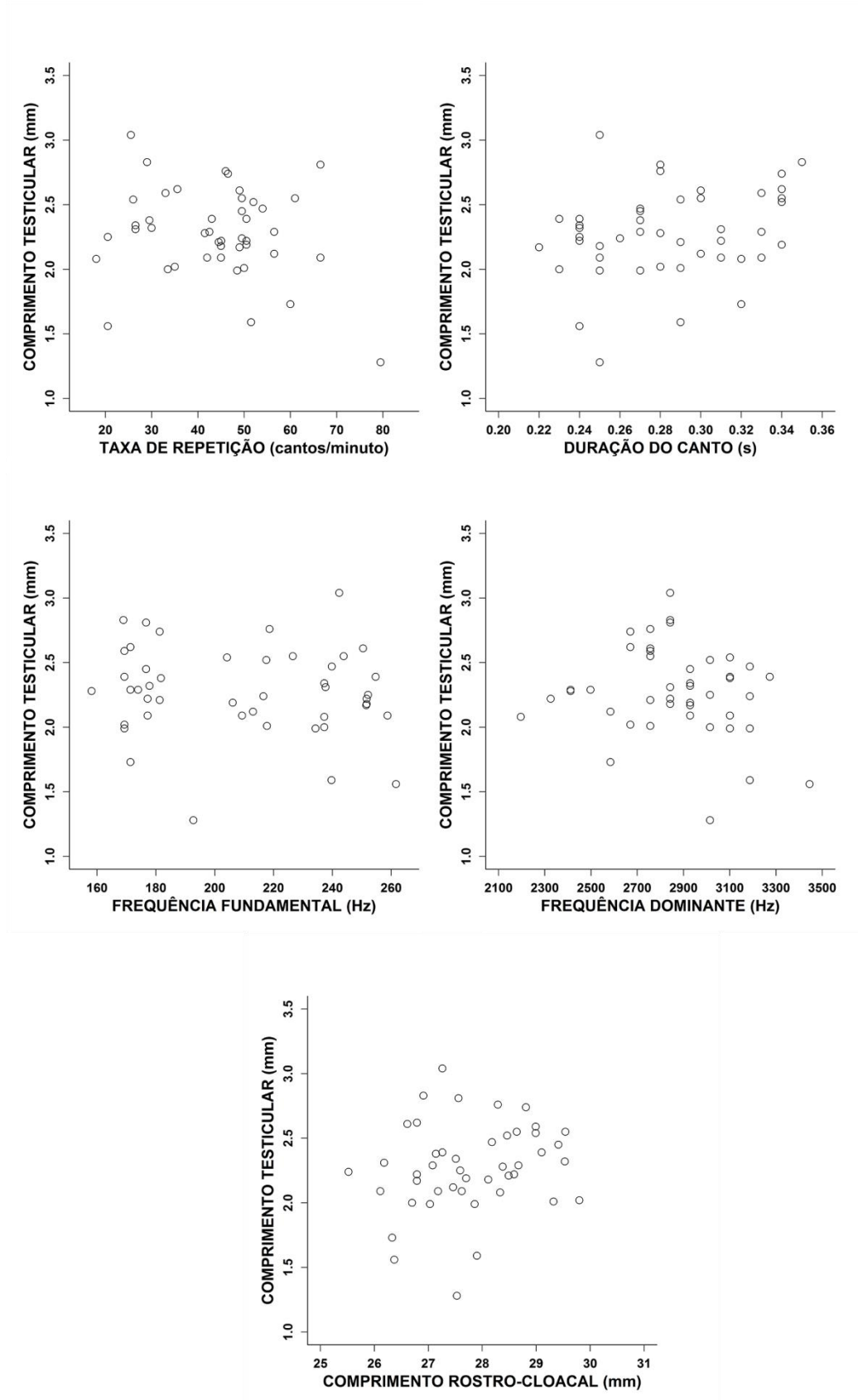
ANEXO A

Imagens dos testículos e corpos de gordura de *Physalaemus albifrons* de Mossoró-RN.



ANEXO B

Relação entre o comprimento testicular de *Physalaemus albifrons* de Mossoró-RN e cada uma das variáveis preditoras.



ANEXO C

Relação entre a massa do corpo de gordura de *Physalaemus albifrons* de Mossoró-RN e cada uma das variáveis preditoras.

