

**Tesis de Finalización de la Maestría en Ciencias  
Biológicas, sub-área Ecología  
PEDECIBA – Universidad de la República**

---

**PLASTICIDAD EN EL CANTO  
DE LOS ANUROS: EL  
EFECTO DE LA  
ESTRUCTURA DEL  
HÁBITAT**

---

**Lic. Lucia Ziegler**

**ORIENTADORES:  
Dr. Matías Arim  
Dr. Peter M. Narins**

**TRIBUNAL:  
Dr. Enrique P. Lessa  
Dr. Daniel E. Naya  
Dr. Marcelo Loureiro**





# ÍNDICE GENERAL

Índice general .....	1
Índice de figuras y tablas .....	2
Agradecimientos .....	6
Resumen .....	8
1 Introducción .....	10
1.1 Comunicación .....	10
1.2 Hipótesis de Adaptación Acústica .....	12
1.3 Plasticidad .....	15
1.4 Anfibios como modelo .....	17
1.5 Hipótesis de trabajo .....	19
1.6 Objetivos .....	19
2 Materiales y métodos .....	21
2.1 Organismo modelo: <i>Hypsiboas pulchellus</i> .....	21
2.2 Trabajo de campo .....	22
2.3 Evaluación de la existencia de flexibilidad en el canto .....	23
2.4 Asociación entre atributos del canto y el ambiente .....	25
3 Resultados .....	29
3.1 Breve descripción del canto de anuncio de <i>Hypsiboas pulchellus</i> ...	29
3.2 Evidencia experimental en favor de la existencia de flexibilidad en el canto .....	32
3.3 Conexión causal entre ambiente y estructura del canto .....	36
3.4 Análisis a nivel de macroambientes .....	39
4 Discusión .....	41
4.1 Flexibilidad fenotípica y atributos individuales .....	42
4.2 Explorando los mecanismos próximos y últimos implicados en la modulación del canto .....	43
4.3 El desfase entre la escala de análisis y la escala del proceso .....	45
4.4 Comentarios finales .....	46
5 Perspectivas .....	48
Apéndice .....	50

## ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

### Figuras

Figura 1. Esquema ilustrativo representando las predicciones derivadas de la Hipótesis de Adaptación Acústica. A. Esquema de un ambiente abierto, con vegetación herbácea y el sonograma de una especie de anfibio típica de este tipo de ambiente (*Leptodactylus furnarius*). El canto está compuesto por notas cortas (comparar con B) las cuales presentan una clara modulación de frecuencia. El rango de frecuencia utilizado es alto (comparar con B) y los silencios entre notas son largos en relación a la duración de las mismas. B. Esquema de un ambiente cerrado, y con alta densidad de vegetación. Se muestra el sonograma de un anfibio cuyo hábitat es la selva tropical sur y centroamericana (*Leptodactylus pentadactylus*). Se muestra sonograma con una única nota, donde se puede ver su larga duración, y la utilización de una banda de frecuencia más baja que la especie en A. Asimismo, la modulación en frecuencia es leve y lenta ..... 14

Figura 2. Diferentes tipos de ambiente donde de registraron machos de *H. pulchellus* vocalizando. A. Tajamar sin vegetación flotante y muy poca vegetación en los márgenes; B. Tajamar con gran cantidad de plantas acuáticas emergentes (*Ludwigia* sp.); C. Arroyo con macrófitas (*Eichornia* sp., *Juncus* sp. *Ludwigia* sp.) y árboles y arbustos en sus márgenes; D. Tajamar con pastos en la margen ..... 22

- Figura 3. Clausura de espuma de poliuretano. Se muestra fotografía en campo acompañada de un esquema con sus dimensiones (la rana en el esquema no fue dibujada a escala) ..... 24
- Figura 4. A. Esquema de la forma en que se realizó el muestreo de vegetación. Se marcan las distancias (en el eje horizontal) y alturas (en el eje vertical) donde se colocó el cuadrante (B, ver texto) ..... 26
- Figura 5. I) Oscilograma mostrando una secuencia de siete cantos; II) Oscilograma de un canto, mostrando la estructura del mismo: A= nota 1 (duración), B= nota 2 (duración), C= duración total del canto, D= intervalo entre notas; III) Espectrograma del canto mostrado en II), donde se observa la ausencia de modulación en frecuencia ..... 30
- Figura 6. Espectros de fuerza de las notas 1 (A) y 2 (B) del canto de *H. pulchellus*. Con una flecha se marca el armónico dominante (que indica la frecuencia dominante). Como se ve, este coincide con el armónico (= frecuencia) fundamental ..... 31
- Figura 7. Gráfico de dispersión donde se muestra la trayectoria de las variables temporales del canto en machos testados en la clausura de poliuretano. Cada círculo donde se origina una flecha corresponde a un macho cantando en condiciones naturales, y las cabezas de flecha indican la “posición” final, correspondiente a ese mismo macho cantando desde dentro de la clausura. Los ejes (Ejes 1 y 2) corresponden al primer y segundo factor, respectivamente, obtenidos a partir del ACP realizado para las variables temporales. El Eje 1 representa todas las variables temporales a excepción de la duración de la nota 1, la cual está representada por el Eje 2. Los círculos negros corresponden a machos que se encontraban vocalizando en un tajar la noche del 26/10/08; los círculos grises corresponden a machos vocalizando en un

tajamar la noche del 5/1/09 y los círculos blancos corresponden a machos vocalizando en un arroyo con abundante vegetación tanto acuática como en las márgenes en la noche del 27/10/08 ..... 33

Figura 8. Análisis de vías representando el modelo causal que mejor explicó la relación entre las variables bióticas y abióticas del sistema. Los coeficientes de las vías entre variables se indican en cada caso. veg. local= vegetation local, correspondiente al primer factor del ACP para densidad de la vegetación; %H2O= porcentaje de agua sin cobertura de vegetación en el sitio de canto; temp= temperatura; canto temporal y canto espectral= parámetros temporales y espectrales del canto, respectivamente. Las Epsilon ( $\epsilon$ ) representan las varianzas no explicadas por el modelo ..... 38

Figura 9. Correlaciones entre los atributos temporales y espectrales del canto y la estructura del hábitat a nivel macroambiental. Los coeficientes de correlación de Spearman fueron calculados separadamente para cada variable en función de la complejidad del hábitat A. Duración de la nota 1 ( $R = 0,65$ ;  $p < 0,01$ ); B. Duración de la nota 2 ( $R = 0,81$ ;  $p < 0,01$ ); C. Duración total del canto ( $R = 0,85$ ;  $p < 0,01$ ); D. Duración de intervalo entre notas ( $R = 0,73$ ;  $p < 0,01$ ); E. Frecuencia dominante de la nota 1 ( $R = -0,02$ ;  $p = 0,91$ ); F. Frecuencia dominante de la nota 2 ( $R = 0,02$ ;  $p = 0,90$ ). Los valores en el eje x hacen referencia al macroambiental: 1) tajamares sin vegetación; 2) tajamares con macrófitas emergentes y flotantes pequeñas ( $\leq 0,5$  m); 3) tajamares con macrófitas emergentes y/o flotantes medianas ( $0,5$  m < altura  $\leq 1,0$  m), y con vegetación arbustiva alrededor; 4) arroyo con macrófitas emergentes de gran tamaño (altura > 1,0 m),

ribera con arbustos y árboles medianos .....	40
--	----

## Tablas

Tabla 1. Test de Student para muestras independientes, mostrando las diferencias intra-individuales antes y después del tratamiento experimental con la clausura. FD1= frecuencia dominante de la nota 1; FD2= frecuencia dominante de la nota 2; DN1= duración de la nota 1; DN2= duración de la nota 2; DC= duración total del canto; IEN= duración del intervalo entre notas .....	34
Tabla 2. Test de Student para muestras pareadas mostrando las diferencias inter-individuo tanto para variables temporales como espectrales del canto antes y después del tratamiento con la clausura (N=8). FD1=frecuencia dominante de la nota 1; FD2=frecuencia dominante de la nota 2; DN1=duración de la nota 1; DN2= duración de la nota 2; DC= duración total del canto; IEN=intervalo entre notas .....	35
Tabla 3. Resultados del experimento utilizando la técnica de playback para evaluar el efecto de la clausura en las variables del canto. Test de Student para muestras pareadas mostrando las diferencias inter-individuo para los atributos temporales y espectrales antes y después de la clausura (N=7). FD1=frecuencia dominante de la nota 1; FD2=frecuencia dominante de la nota 2; DN1=duración de la nota 1; DN2= duración de la nota 2; DC= duración total del canto; IEN=intervalo entre notas .....	36

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quisiera agradecerle a Matías Arim, por ser un tutor excepcional. Desde el comienzo, cuando esta tesis era solo una idea, decidió embarcarse conmigo en llevarla a cabo, a pesar ser un tema alejado de su área de trabajo, y a todo riesgo de no saber cual sería el resultado. Este joven genio me enseñó a canalizar una simple pregunta hacia el formato que hoy tiene esta tesis. Fue promotor de discusiones que me cambiaron el panorama, y compañero de buenos y malos momentos, con menos tiempo para dar del que seguro él quisiera, pero con un corazón enorme. Gracias Mato!

También para Peter Narins, co-orientador de esta tesis, solo hay palabras de agradecimiento. Un académico con la generosidad de pocos, desde el primer momento gladly aceptó ayudarme, sin tener ninguna referencia previa acerca de mí. Luego todo fueron oportunidades de crecer y aprender. Así es Peter, haciendo todo lo posible para dar lo mejor a los demás.

Agradezco a los Dres. Enrique P. Lessa, Daniel E. Naya y Marcelo Loureiro por aceptar ser parte del tribunal, y por las correcciones y sugerencias, así como las palabras generales muy positivas hacia los resultados y el formato final de esta tesis.

El trabajo de campo fue posible gracias a muchas personas que colaboraron de una u otra forma en que este proyecto saliera adelante. Gabriel Laufer, me permitió usar su chacra como “base de operaciones” y sitio de muestreo. Allí también Johnny me sugirió lugares donde podía encontrar “pulchellas” cantando. Matías Zarucki, Luis Orlando, Juan Manuel Barreneche, Alejandro Duarte y Mauro Berazategui ayudaron en los muestreos y/o experimentos de campo.

Un agradecimiento muy especial va para Karim. Porque estar contigo es un regalo, un mimo de la vida (y te robo tus palabras). Tu contribución es a cada palabra de esta tesis, porque sos la persona que quiero y es así que me acompañás en cada momento.

Mis padres, Sofía y Pablo, no solo me prestaron el jeep para llegar cada vez a “Rancho Laufer”, sino que me apoyaron incondicionalmente siempre, aun sin tener muy claro de que se trataba todo esto.

Los compañeros del Jolgory Lab merecen el paraíso (o al menos que la calefacción funcione en invierno), porque son quienes me bancaron más directamente, y sufrieron los avatares y demencias de mi trabajo y más durante 2 años (o más!): Juan Manuel Barreneche, Mauro “Lechuga” Berazategui, Matías Zarucki, Gabriel “el Laufer” Laufer, Ramiro Pereira, Alejandro Duarte, Sabrina Clavijo, Daniel Hernández, Sebastián Serra, Juan Manuel Piñeiro y Rosana Ferrero, junto con los jefazos, Mato y Mapy.

También les agradezco a Laura, Luciana y Verónica, simplemente por ser las amigotas que son. Siempre alentándome a seguir adelante, me hace muy feliz saber que cuento con ustedes.

Por último, pero no menos importante, quisiera agradecer a quienes apoyaron económica y logísticamente este trabajo. Al Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas, PEDECIBA, que permite realizar estudios de posgrado de calidad, en el país, y en forma gratuita, y que además financió otras actividades relacionadas a esta tesis. La Agencia Nacional de Investigación e Innovación me otorgó una beca de maestría, sin la cual hubiese sido muy difícil que esta tesis se realizara en tiempo y forma. Finalmente, la Acoustical Society of America me honró con un premio a mi proyecto de maestría, que junto con los materiales donados por Idea Wild, facilitaron el acceso a los equipos de grabación y otros materiales de campo y la financiación de las salidas.

Muchas, muchísimas gracias a todos!

## RESUMEN

La estructura del ambiente que rodea a un organismo que se encuentra vocalizando produce un patrón único de degradación y/o atenuación de la señal. El ajuste esperado del canto para asegurar una transmisión eficiente de la señal en un ambiente determinado ha sido formalizado a través de la Hipótesis de Adaptación Acústica (HAA). Circunscriptos en este marco, la mayor parte de los estudios han considerado los cantos de los anuros como atributos fijos determinados por adaptaciones locales. Sin embargo, en forma bastante reciente se ha reportado variabilidad en dichas señales como producto de la expresión fenotípica. Por otra parte, la evidencia empírica que apoya la asociación entre el tipo de ambiente y la estructura del canto (según lo predicho por la HAA), ha sido particularmente inconsistente en el caso de los anuros. En esta tesis se identifica una estructura causal plausible que conecta el ambiente, los atributos individuales de los organismos y los ajustes temporales y espectrales del canto como determinantes directos e indirectos de la variación observada en el canto de la rana *Hypsiboas pulchellus*. Para lograr este modelo, se registraron los cantos de 40 machos en su hábitat natural en diferentes micro- y macroambientes, juntos con la densidad de la vegetación y otros descriptores ambientales del sitio de canto, así como algunos parámetros individuales. El análisis de vías reveló un fuerte efecto de la estructura de la vegetación a una escala de microhábitat en los parámetros temporales del canto, así como un efecto de la temperatura como condicionante del tamaño de los organismos que se encontraban cantando en cada sitio, afectando así indirectamente la frecuencia dominante del canto. Mediante la modificación experimental del sitio de canto con una clausura de espuma de poliuretano se obtuvieron resultados consistentes con los derivados de los datos de campo, poniendo énfasis en el potencial rol de la flexibilidad en los patrones de canto detectados. Además, los resultados tanto experimentales como obtenidos por correlación respecto de los atributos temporales son coincidentes con las

predicciones de la HAA. Este trabajo cuestiona la visión de que la adaptación de los cantos de anuncio a su ambiente de propagación se ha dado únicamente a través de la selección de variantes fijas. En este sentido, se plantea la posibilidad de que en ciertos escenarios, los organismos flexibles sean seleccionados, y se resalta el rol de la flexibilidad fenotípica como un factor clave para la comprensión de la interrelación entre estructura de la señal y el ambiente.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Comunicación

La transferencia de información es un componente central de las interacciones entre individuos (Redondo 1994, Schwartz 2001). En la visión clásica, el proceso de comunicación se integra por una señal que contiene información, producida por un emisor, y que es recibida por un receptor luego de la propagación a través de un canal de transmisión (Smith 1965). Sin embargo, en la mayor parte de las situaciones naturales, las señales no llegan al receptor tal cual fueron emitidas, debido a interferencias físicas, o con otras señales que simultáneamente utilizan el mismo canal (Narins y Zelick 1988). En el caso particular de las señales acústicas, la interferencia con otras señales viene dada tanto por coespecíficos como por organismos de otros taxa, mientras que las restricciones a la capacidad de propagación están asociadas a factores climáticos (por ejemplo, humedad, vientos; Richards y Wiley 1980) así como a la estructura del hábitat (vegetación) en que se realizan las vocalizaciones (Wiley y Richards 1978, Wiley 1991).

Las señales acústicas emitidas entre la vegetación están restringidas por la capacidad de propagación del sonido, afectada particularmente por su atenuación y degradación (Wiley y Richards 1978). La atenuación es el decremento progresivo de la intensidad de la señal (i.e. la energía por unidad de superficie), la cual tiene lugar a medida que aumenta la distancia a la fuente (Forrest 1994). En un medio uniforme, la energía del sonido se propaga por una esfera que se hace cada vez mayor a medida que la onda se aleja de su fuente. A este fenómeno se le denomina propagación esférica. En este caso, la energía disminuye en proporción al cuadrado de la distancia de la fuente. En ambientes naturales la atenuación es siempre mayor que lo predicho por propagación esférica debido a la absorción atmosférica (Forrest

1994) y a la estructura de la vegetación (Aylor 1972, Martens 1980). Por ejemplo, el aire cálido y seco mejora la transmisión del sonido (Harris 1966, Michelsen 1983), mientras que el follaje denso incrementa la atenuación (Aylor 1972, Martens 1980). La degradación es definida por Morton (1986) como la suma de los cambios estructurales que la señal acumula a alguna distancia de la fuente. Puede consistir en alteraciones en la frecuencia por dispersión o refracción debido a obstáculos, y rearreglos temporales mediante ecos y reverberación (Bradbury y Vehrencamp 1998). La degradación es mayor en hábitats de follaje denso (Blumenrath y Dabelsteen 2004) y un exceso de degradación puede reducir, o incluso impedir, la transferencia de información entre el emisor y el receptor (Fotheringham y Ratcliffe 1995, Fotheringham et al. 1997, Mathevon y Aubin 1997, Patricelli y Blickley 2006). Existen además otros cambios cualitativos en la estructura de las señales: las modulaciones de amplitud son rápidamente alteradas, la atenuación dependiente de frecuencia cambia el perfil del espectro pudiendo suprimir notas de tono elevado, mientras que los silencios entre notas son llenados por ecos de reverberaciones (Richards y Wiley 1980, ver Bradbury y Vehrencamp 1998 para una revisión).

Para ser efectiva, una señal debe ser detectada y discriminada por el receptor (Schwartz 2001). Esto puede ser problemático debido a que luego de cierta distancia de propagación las modificaciones en la estructura de la señal pueden ser tan importantes que el receptor se vuelve incapaz de extraer ninguna información relevante de la misma, por ejemplo sobre la identidad específica del emisor. El espacio activo de la señal acústica depende de varios factores. Algunos de ellos son impuestos por el canal de propagación (ambiente biótico y abiótico), mientras que otros están vinculados a características intrínsecas del organismo (intensidad de la señal emitida, características temporales y espectrales del sonido), y aún otros son controlados por el comportamiento del individuo (por ejemplo, altura de perchado desde

donde se emite la vocalización y movimientos horizontales) (Mathevon et al. 2004).

Existe una amplia literatura documentando los efectos de la estructura de la vegetación sobre algunas características del canto y su capacidad de propagación en el medio (Wiley y Richards 1978, Richards y Wiley 1980), principalmente en aves (Wiley 1991, Brown y Handford 1996, Mathevon y Aubin 2001, Mathevon et al. 2004, Moore et al. 2004, Nicholls y Goldzien 2006, Patricelli y Blickley 2006, Boncoraglio y Saino 2007), anfibios (Hödl 1977, Wells y Schwartz 1982, Zimmerman 1983, Kime et al. 2000, Lüddecke et al. 2000, Brenowitz et al. 2001, Bosch y de la Riva 2004, Witte et al. 2005), insectos (Gerhardt y Huber 2002, Sueur 2002, Sueur y Aubin 2003, Couldridge y van Staaden 2004, Desutter-Grandcolas y Robillard 2004) y mamíferos (Daniel y Blumstein 1998, Mercado III y Frazer 1999, Brumm et al. 2004, Alberts y Altmann 2006, Jones y Teeling 2006), así como algunos trabajos en otros taxa (peces; Schwartz 1985, Rosenthal y Lobel 2005). Algunos de estos trabajos reportan variabilidad en las emisiones acústicas relacionadas con las características del hábitat. El foco ha estado principalmente en las implicancias evolutivas de esta variabilidad, asumiendo que los organismos han estado sujetos a un régimen de selección direccional de forma de maximizar la capacidad de transmisión y minimizar la degradación del canto (Hödl 1977, Zimmerman 1983, Desutter-Grandcolas y Robillard 2004, Patten et al. 2004, Seddon 2005, Boncoraglio y Saino 2007).

## 1.2 Hipótesis de Adaptación Acústica

La Hipótesis de Adaptación Acústica (de aquí en más HAA) propone que la selección, dependiente de la estructura del hábitat, ha moldeado la evolución de las propiedades acústicas de los cantos (Morton 1975, Hansen 1979). Basada en diferentes patrones de

degradación y atenuación en relación a la estructura del hábitat (ver arriba y Wiley y Richards 1978), la HAA predice que los cantos con frecuencias bajas, anchos de banda angostos, modulaciones de frecuencia bajas (silbidos), elementos e intervalos inter-elementos largos, deberían prevalecer en hábitats con una estructura de vegetación compleja donde la atenuación y/o degradación es mayor. Contrariamente, altas frecuencias, anchos de banda amplios, altas modulaciones de frecuencia (trinos), elementos e intervalos inter-elementos cortos son esperables en hábitats con vegetación herbácea (Morton 1975) (ver Figura 1).

Las predicciones de la HAA han sido puestas a prueba principalmente en aves pero también en otros organismos modelo (mamíferos; Daniel y Blumstein 1998) centrándose en la relación entre características del canto y hábitat, adoptando dos aproximaciones complementarias: análisis de degradación de emisiones de playback (Richards y Wiley 1980, Dabelsteen et al. 1993, Brown y Handford 2000), y estudios comparativos de características del canto entre especies (Wiley 1991, Badyaev y Leaf 1997, Saunders y Slotow 2004) o poblaciones de coespecíficos que habitan diferentes ambientes (Hunter y Krebs 1979, Shy y Morton 1986, Boncoraglio y Saino 2007).

Poco se ha estudiado sobre esta variabilidad actuando en una escala temporal ecológica. Particularmente, cambios en respuesta a factores ambientales que puedan aparecer a lo largo de la vida de un individuo, o incluso más de una vez en su historia de vida, fenómeno denominado plasticidad fenotípica. Sin embargo, existen estudios que específicamente exploran la capacidad de algunos organismos de modular las emisiones sonoras en respuesta a características del ambiente (Lardner y bin Lakim 2002, Nicholls y Goldzien 2006, Wood y Yezerinac 2006). Esta modulación está bajo regulación comportamental del organismo, lo que plantea la posibilidad de abordar dichos problemas dentro del marco teórico de la plasticidad, lo cual proponen

en algún caso los propios autores (Lardner y bin Lakim 2002, Nicholls y Goldzien 2006).

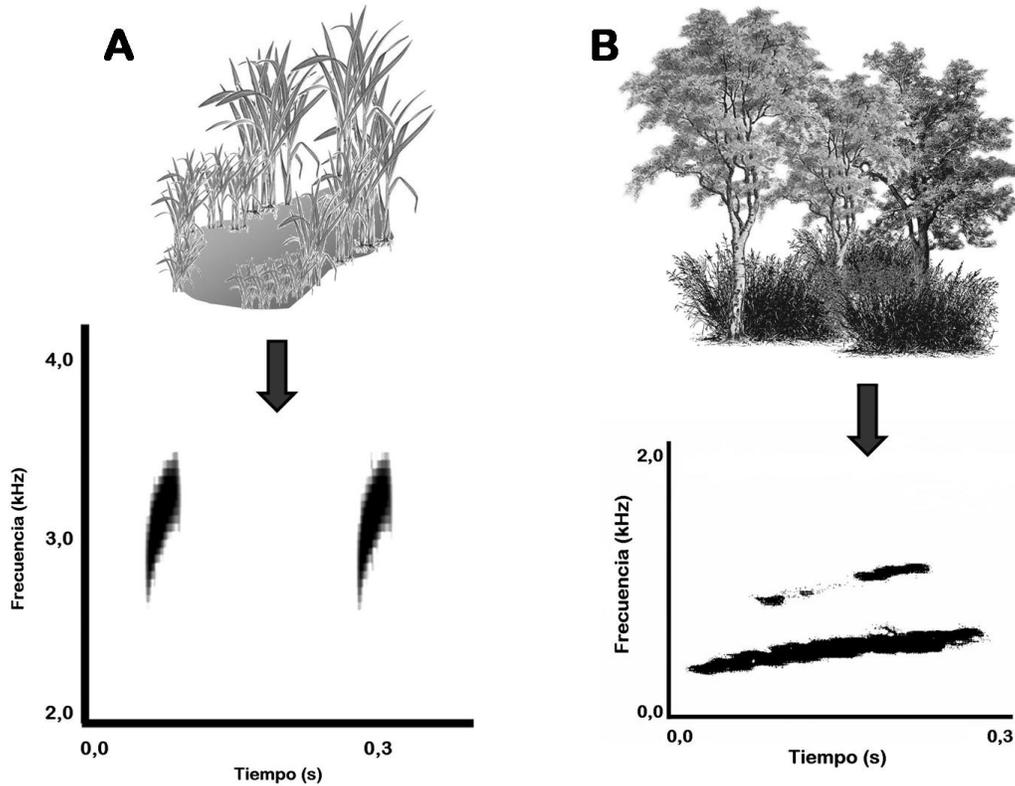


Figura 1. Esquema ilustrativo representando las predicciones derivadas de la Hipótesis de Adaptación Acústica. A. Esquema de un ambiente abierto, con vegetación herbácea y el sonograma de una especie de anfibio típica de este tipo de ambiente (*Leptodactylus furnarius*). El canto está compuesto por notas cortas (comparar con B) las cuales presentan una clara modulación de frecuencia. El rango de frecuencia utilizado es alto (entre 2,5 y 3,5 kHz aproximadamente; comparar con B). B. Esquema de un ambiente cerrado, y con alta densidad de vegetación. Se muestra el sonograma de un anfibio cuyo hábitat es la selva tropical sur y centroamericana (*Leptodactylus pentadactylus*). Se muestra sonograma con una única nota, donde se puede ver su larga duración, y la utilización de una banda de frecuencia más baja que la especie en A. Asimismo, la modulación en frecuencia es leve y lenta.

## Plasticidad

Las respuestas en el fenotipo de un organismo frente al ambiente que experimenta han sido un importante foco de atención en las últimas décadas, particularmente a partir de la década de 1980 (Bozinovic 2002, Ernande y Dieckman 2004, Sarkar 2004). La plasticidad fenotípica puede ser definida a grandes rasgos como un genotipo que produce distintos fenotipos en respuesta a diferentes condiciones ambientales (DeWitt y Scheiner 2004). El marco teórico se ha desarrollado notablemente brindando un contexto para comprender los patrones y procesos, y responder preguntas acerca del diseño y la adaptación de los organismos (Piersma y Drent 2003). Los ejemplos son numerosos, involucrando cambios fisiológicos (crecimiento o regresión de tejidos en los diferentes sistemas, termorregulación), morfológicos (como ser cambios inducidos por la presencia de depredadores o competidores, Newman 1994), o comportamentales (agresividad, Sih et al. 2004; tiempo dedicado a la búsqueda y consumo de alimento, Schmitz et al. 1997).

Piersma y Drent (2003) proponen categorizar la plasticidad según la reversibilidad del cambio, su patrón temporal y si puede presentarse independientemente en un único individuo. De esta forma, se definen cuatro categorías de plasticidad: plasticidad del desarrollo, donde los cambios se producen en algún estadio del desarrollo y son irreversibles, flexibilidad fenotípica donde los cambios fenotípicos son reversibles y se manifiestan a nivel individual, pero con un patrón no-cíclico, polifenismos y etapas de la historia de vida (estas dos últimas pueden ser consideradas subcategorías de las dos primeras, respectivamente. Piersma y Drent 2003). De todas ellas, aquella que permite un mejor abordaje de los ajustes de la comunicación animal respecto a cambios en las condiciones ambientales es la flexibilidad fenotípica. Por otra parte, las diferentes expresiones de plasticidad (plasticidad en el desarrollo o flexibilidad) presentan un valor diferente en cuanto a su efecto en la eficacia de un organismo dependiendo de las características

del ambiente. Dentro de estas características están comprendidos diversos factores como la heterogeneidad espacial, la escala temporal, y la fiabilidad de las claves ambientales que disparan los cambios en el fenotipo (Doughty y Reznick 2004). Se plantea que es esperable el desarrollo de flexibilidad fenotípica en lugar de plasticidad del desarrollo en aquellos casos en el ambiente sea variable pero en cierta forma predecible (es decir, que dicha variabilidad esté contemplada en la “memoria” genotípica del organismo). Otra situación en que se esperaría este mismo resultado es cuando las claves ambientales que disparan la flexibilidad en el fenotipo sean claramente distinguibles y no ambiguas (Moran 1992). Recientemente se han publicado una serie de artículos donde se plantean las ventajas de la plasticidad reversible (flexibilidad fenotípica) frente a fenómenos de plasticidad irreversible (plasticidad en el desarrollo y polifenismos) (Gabriel et al. 2005, Gabriel 2006).

En este sentido, los casos documentados de flexibilidad fenotípica en comunicación acústica son escasos, más aún si se buscan trabajos donde se haga un relacionamiento explícito con el marco teórico (ver Nicholls y Goldzien 2006, Boncoraglio y Saino 2007 para algunos ejemplos). Por otra parte, los taxa sobre los cuales se han puesto a prueba hipótesis relacionadas con la flexibilidad de las emisiones acústicas en relación al ambiente han sido mayoritariamente aves y mamíferos, siendo pocos los trabajos en otros grupos (por ejemplo anfibios) que hacen referencia o abordan esta temática (Lardner y bin Lakim 2002, Bee 2003). Sin embargo, Berrigan y Scheiner (2004) predicen que la selección natural favorecerá la aparición de estrategias plásticas por sobre estrategias fijas cuando estén presentes las siguientes situaciones: heterogeneidad ambiental, claves ambientales confiables, beneficios que sobrecompensen el costo de la plasticidad, y una base genética para la plasticidad. Bajo estas premisas, existen una serie de características en los anuros que los presentan como un grupo ideal sobre el cual explorar esta temática.

## Anfibios como modelo

Los anfibios han sido un modelo óptimo para trabajar en temas de flexibilidad fenotípica, particularmente en estudios de ecología fisiológica (Feder y Burggren 1992). Una serie de características hacen a este grupo particularmente adecuado y útil como modelo para el estudio de la plasticidad en los cantos: 1) la importancia del canto para los anuros en aspectos tan diversos como interacción social, reproducción o vulnerabilidad a la depredación (Bernal et al. 2007), 2) la señal acústica experimenta variaciones inducidas por el ambiente, registrándose respuestas (ajustes comportamentales) en el individuo frente a variaciones en las condiciones ambientales (Lardner y bin Lakim 2002), 3) es posible encontrar a una misma especie vocalizando en ambientes diferentes, 4) existe un cuerpo de estudio muy sólido en lo que se refiere a los atributos del canto, su base neuroetológica, y qué factores del ambiente biótico/abiótico tienen un papel preponderante sobre los mismos (Narins et al. 2007).

Las señales acústicas juegan un rol fundamental en la comunicación de los anuros (Hödl y Amézquita 2001). Estas señales son emitidas principalmente por los machos para atraer a las hembras coespecíficas, delimitar territorios, como señal agonística entre machos o como señales de reconocimiento entre individuos coespecíficos (Gerhardt 1994). Las vocalizaciones más conspicuas, aquellas que se pueden oír por las noches como grandes coros generalmente cerca de cuerpos de agua pertenecen al primer tipo (señales para atracción de las hembras), llamadas cantos de anuncio, cantos nupciales, o en la literatura en inglés advertisement calls. Debido a su papel central en la reproducción, se sostiene que los cantos de anuncio deben estar sujetos a una fuerte selección sexual (Duellman y Pyles 1983, Gerhardt 1994, Hödl y Amézquita 2001, Sueur 2002, Chek et al. 2003). Por otra parte, estas señales son escuchadas por otros receptores, entre los que se encuentran potenciales depredadores y parásitos, que pueden utilizarlas

como una guía hacia sus presas (Sueur 2002, Page y Ryan 2005, Bernal et al. 2007). Otra característica importante de los cantos de anuncio es el alto costo energético que representan para estos organismos (Taigen y Wells 1985, Wells y Taigen 1986, Pough et al. 1992). Todo esto genera un claro compromiso en términos de fitness para el individuo que emite la señal.

Como fue discutido más arriba, otro elemento de peso en el diseño de las emisiones acústicas son los efectos de la estructura del hábitat en la propagación de las mismas. Sin embargo, son pocos los trabajos que exploran la capacidad de los individuos de evaluar el ambiente para luego tomar una decisión en cuanto a la emisión de vocalizaciones. Lardner y bin Lakim (2002) reportaron lo que parece ser la primera evidencia de un anuro que no sólo es capaz de evaluar las propiedades de resonancia de su ambiente sino de ajustar también en forma facultativa ciertas características del canto. Existen además reportes de ajuste comportamental en casos de competencia intraespecífica dentro de un lek, donde se modelan estrategias de canto por parte de los machos dependiendo de la frecuencia y densidad de individuos de la misma especie (Lucas y Howard 1995, Lucas et al. 1996). Otros autores (Wells y Taigen 1986) han explorado la capacidad de modulación de las propiedades macrotemporales (gross temporal patterns) del canto de una especie de hílido frente a diferentes densidades de coespecíficos.

Con evidencia de este tipo en cuanto a las señales acústicas, es de esperar que los individuos de una especie perciban y evalúen las propiedades acústicas del ambiente donde realizan sus vocalizaciones para modular las mismas de forma de mantener su estructura y significado para el receptor. De esta forma podrían evitar incurrir en costos que no reportarían beneficios (una señal que al llegar no tenga significado tal que no provoque en el receptor la respuesta esperada), tanto en tiempo ecológico (pérdida de energía, exposición a

depredadores) como evolutivo (decremento del fitness o eficacia darwiniana) (Gerhardt 1994, Chek 2003).

## Hipótesis de Trabajo

### Hipótesis general

La Hipótesis de Adaptación Acústica propone que la selección dependiente de la estructura del hábitat ha moldeado la evolución de las propiedades acústicas de los cantos. Dentro de los atributos se habría seleccionado la capacidad de desarrollar flexibilidad en el canto en respuesta a variaciones ambientales, permitiendo ajustar el canto de anuncio a las capacidades y restricciones de propagación en el medio.

### Hipótesis particulares

H<sub>1</sub>: los organismos son capaces de evaluar las características de propagación sonora de su ambiente.

H<sub>2</sub>: El canto de los anfibios, al igual que otros rasgos fenotípicos, es flexible. Esta flexibilidad estará evidenciada en a) organismos que vocalicen en ambientes diferentes, b) organismos que vocalicen en distintos sitios dentro de un mismo ambiente.

## Objetivos

### Objetivo general:

Describir la variación en las vocalizaciones de anuncio de los machos de una especie de anuro de acuerdo a los diferentes ambientes que son utilizados como sitios de emisión.

### Objetivos específicos:

O<sub>1</sub>: Registrar cantos de anuncio en un amplio rango de macro y microambientes

O<sub>2</sub>: Analizar y describir la estructura de dichos cantos

O<sub>3</sub>: Estudiar la asociación entre ciertos atributos del canto y las condiciones ambientales.

O<sub>4</sub>: Identificar la estructura causal más verosímil que subyace a la relación entre el tipo de hábitat y la variación constatada en la(s) propiedad(es) del canto, mediante el método de análisis de vías.

O<sub>5</sub>: Analizar esta variación en el contexto de la plasticidad/flexibilidad fenotípica

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

Organismo modelo: Hypsiboas pulchellus

*Hypsiboas pulchellus* es un anfibio de tamaño mediano (longitud hocico-cloaca: 30–46 mm.; peso: 1.8–4.7 g.). Se distribuye en el sur de Sudamérica, específicamente en Uruguay, sur de Brasil, centro y noreste de Argentina y sur de Paraguay. Los coros que forman los machos se pueden encontrar en diferentes épocas del año, sin una marcada estacionalidad (Canavero et al. 2008). Esta especie no presenta una preferencia clara por determinados tipos de sitios para vocalizar. Los machos utilizan como sitios de canto desde cuerpos lénticos tanto naturales como artificiales con escasa vegetación hasta cuerpos lóticos con vegetación acuática y márgenes forestadas, y todo el rango de vegetación entre medio. Asimismo, pueden utilizar un rango amplio de alturas de perchado. Todos estos sitios exhiben propiedades de propagación acústica marcadamente diferentes (Murray et al. 1991, Nemeth et al. 2006). Un modelo con estas características permite evaluar la existencia de flexibilidad en el canto en situaciones naturales.

El canto de *H. pulchellus* fue descrito por Basso y Basso (1987). Sin embargo, luego del trabajo de campo realizado en esta tesis y tras haber analizado los cantos de casi 50 individuos diferentes, la descripción original no se ajusta a las características del canto observadas. Por este motivo se ofrece en la sección RESULTADOS una breve descripción del canto de esta especie, de forma de poder comprender mejor las variables a las que se hace referencia.

## Trabajo de campo

El trabajo se campo se llevó a cabo en una chacra ubicada en Paraje Costa Pando, Departamento de Canelones, Uruguay ( $34^{\circ}34'21''\text{S}$ ;  $55^{\circ}56'40''\text{W}$ ). El sitio presenta heterogeneidad en cuanto a la estructura de macroambientes. Algunos de estos macroambientes pueden subdividirse a una menor escala, proveyendo de sitios con características particulares en cuanto a la estructura de la vegetación, los cuales son utilizados por la especie modelo como sitios de vocalización (Figura 2).

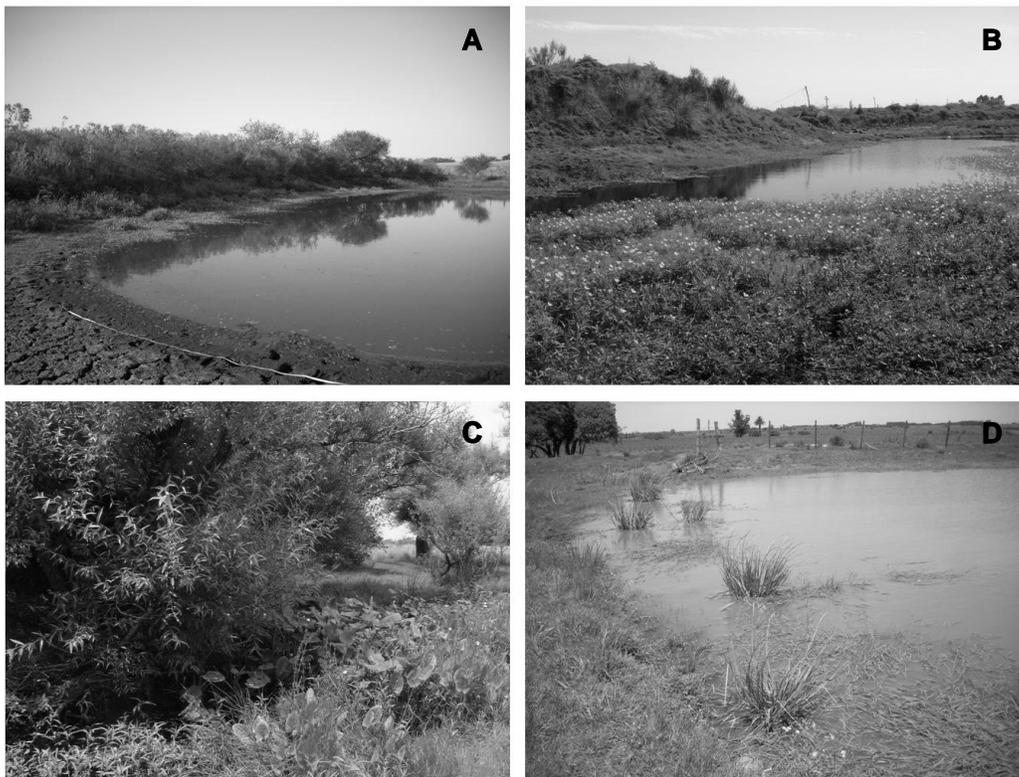


Figura 2. Diferentes tipos de ambiente donde se registraron machos de *H. pulchellus* vocalizando. A. Tajamar sin vegetación flotante y muy poca vegetación en los márgenes; B. Tajamar con gran cantidad de plantas acuáticas emergentes (*Ludwigia* sp.); C. Arroyo con macrófitas (*Eichornia* sp., *Juncus* sp. *Ludwigia* sp.) y árboles y arbustos en sus márgenes; D. Tajamar con pastos en la margen.

Los cantos de anuncio fueron grabados en cintas cassette de cromo utilizando una grabadora analógica (SME Marantz PMD 222) y un micrófono shotgun direccional (Sennheiser ME66/K6). Los cantos fueron digitalizados utilizando una interfase análogo/digital (Edirol/Roland UA-1EX) en Audacity 1.2.6 (software libre). Las variables utilizadas para el análisis de los cantos fueron obtenidas a partir de espectrogramas y oscilogramas generados en Audacity 1.2.6. Estas fueron: frecuencia dominante de cada nota, tasa de canto, duración de cada nota, duración del intervalo entre notas y duración total del canto. Estos parámetros son considerados descriptores robustos de los cantos de anuncio de los anfibios en general, pues aparecen como los menos variables dentro de las vocalizaciones de diferentes especies de anuros (Gerhardt 1991, Gerhardt y Huber 2002). De esta forma, se evita la inclusión de variación natural del canto dentro de los análisis, que de otra forma, podría ser atribuida en forma errónea al fenómeno de estudio (variabilidad inducida por el ambiente). Como metodología general de grabación, se registró el canto de machos de *H. pulchellus* que se encontraban cantando en diferentes ambientes. Cada canto fue registrado a aproximadamente 30 cm. de la fuente de emisión, en lo que se denomina condiciones de campo libre, para evitar interferencias por ondas reflejadas. En base a esta metodología general de registro de vocalizaciones, en los apartados que siguen se detallan los diseños experimentales y de campo que se utilizaron para abordar cada uno de los objetivos de este trabajo.

## Evaluación de la existencia de flexibilidad en el canto

La capacidad de los individuos de modular la estructura de sus cantos en respuesta a variaciones ambientales fue evaluada exponiendo a los mismos a condiciones contrastantes de propagación del sonido. Para alterar la acústica ambiental local, se utilizó una clausura cúbica, abierta en la base y la cara superior, con paredes de láminas espuma de

poliuretano (dimensiones: 0.5 x 0.5 x 0.5 m.; espesor: 10 mm.) (Figura 3). Para este experimento se grabaron 8 machos en condiciones de campo libre. La clausura era luego colocada alrededor de cada macho y una vez retomado el canto se volvía a registrar, con el micrófono dentro de la clausura de poliuretano. La modulación intra-individual del canto fue analizada para cada uno de los seis parámetros del canto (duración de las notas 1 y 2, intervalo entre notas, duración total del canto y frecuencia dominante de las notas 1 y 2; ver Figura 5 para visualizar los parámetros) utilizando el test de Student para muestras independientes (Sokal y Rohlf 1994). Además, se realizó un test de Student para muestras pareadas utilizando el valor de la media de cada uno de los parámetros del canto antes y después del tratamiento con la clausura. Como forma de visualizar cómo cambiaban las variables por efecto del tratamiento, se llevó a cabo un análisis de componentes principales (ACP) utilizando las variables temporales del canto que fueron significativas en el test de Student pareado. Con estos datos se trazó la trayectoria de la estructura del canto de cada individuo dentro del ACP antes y después del tratamiento con la clausura.

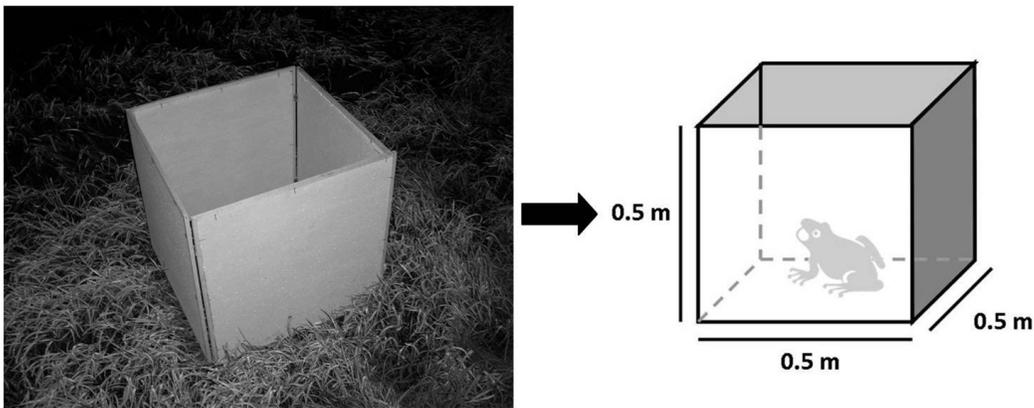


Figura 3. Clausura de espuma de poliuretano. Se muestra fotografía en campo acompañada de un esquema con sus dimensiones (la rana en el esquema no fue dibujada a escala).

Debido a que el tratamiento en si podría estar afectando la propagación y posterior registro de los cantos, pudiéndose confundir con cambios en la señal originados por los organismos, se realizaron experimentos de playback para evaluar el efecto de la clausura de espuma de poliuretano en los cantos. Los cantos de 7 de los machos que fueron testados con el tratamiento (ver párrafo anterior) fueron emitidos con un parlante (Tivoli PAL) y re-grabados desde dentro de la clausura de la misma forma que fue hecho anteriormente con los propios individuos. El procedimiento de obtención de las variables de estos cantos fue el mismo que se describió anteriormente.

### Asociación entre atributos del canto y el ambiente

Los machos que se encontraban cantando fueron grabados a una distancia aproximada de 30 cm. durante al menos 2 minutos, o la duración de una tanda de canto. Luego de ser grabado, cada individuo fue pesado con una balanza de resorte con una precisión de 0,1 g. (Pesola) y su longitud hocico-cloaca medida con un calibre digital (Mitutoyo) con una precisión de 0,01 mm. Para cada individuo que era grabado también se tomó la temperatura del aire del sitio de perchado con una precisión de 0,05 °C. Los sitios donde se encontraban cantando estos individuos fueron marcados con una estaca numerada para permitir ubicar el sitio para el muestreo de vegetación al día siguiente. La caracterización de la estructura del hábitat se realizó midiendo la densidad de vegetación con un cuadrante de 25 x 25 cm. marcado cada 2,5 cm. (Figura 4 B) Las medidas con el cuadrante eran tomadas a nivel del suelo donde la rana se encontraba cantando, y también a dos alturas diferentes: 0,5 y 1,0 m. sobre el suelo. A su vez, estas medidas se repitieron a 1,0 y 2,0 m. del sitio de canto en cuatro direcciones (Figura 4 A). Una variable ambiental adicional que se incluyó fue el porcentaje de agua en el ambiente, que se derivó de las medidas de densidad de vegetación. Debido a que los sitios muestreados consistían

mayoritariamente de vegetación flotante o emergente cubriendo la superficie del agua (ver Figura 2), todos los cuadrantes que rodeaban el sitio de canto de un individuo que no contenían vegetación ni estaban en tierra fueron sumados, y calculados como un porcentaje sobre el número de medidas tomadas a nivel del suelo para cada individuo.

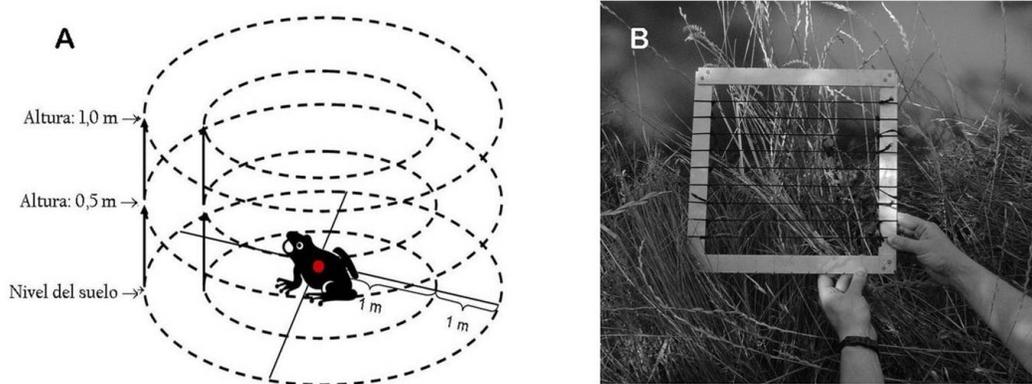


Figura 4. A. Esquema de la forma en que se realizó el muestreo de vegetación. Se marcan las distancias (en el eje horizontal) y alturas (en el eje vertical) donde se colocó el cuadrante (B, ver texto).

Para la caracterización a nivel macroambiental, los ambientes fueron ranqueados en cuatro categorías de acuerdo a la complejidad de su estructura: 1) charcos o tajamares sin vegetación en el agua ni en las márgenes; 2) charcos o tajamares con macrófitas pequeñas emergentes y flotantes (altura  $\leq 0,5$  m); 3) charcos o tajamares con macrófitas medianas emergentes y/o flotantes ( $0,5$  m < altura  $\leq 1,0$  m), y con vegetación arbustiva mediana alrededor; 4) curso de agua con macrófitas emergentes de gran tamaño (altura > 1,0 m), y la ribera poblada con arbustos y árboles de porte mediano. Estos datos se utilizaron para explorar si existía una correlación entre las variables del canto y el ambiente, según lo predicho por la HAA. Los datos del canto de los individuos asociados a cada una de las cuatro categorías de macroambiente fueron combinados y fue estimada la media para cada

parámetro del canto. La asociación entre la media de cada parámetro y la complejidad del hábitat fue analizada a través de el test de correlación de Spearman.

La conexión entre atributos del canto, variables ambientales y variables individuales fue analizada con análisis de vías y SEM (structural equation modeling) (Shiple 2002). Este análisis provee de una técnica robusta a través de la cual evaluar hipótesis ecológicas y evolutivas a partir de las asociaciones observadas entre variables (Néspolo et al. 2003, Kline 2005, Arhonditsis et al. 2006). Idealmente, las hipótesis causales deberían ser puestas a prueba experimentalmente, reduciendo al mínimo la variación no controlada. En estos casos, existe una amplia gama de técnicas estadísticas con las que analizar los datos (por ejemplo, análisis de regresión o análisis de varianza). Sin embargo, cuando se trabaja en un sistema natural, existen numerosas variables que deben ser tenidas en cuenta, además de la dificultad que presenta el control de la variabilidad no deseada (Iriondo et al. 2003). En los casos en que no es posible manipular el sistema experimental, una alternativa a la experimentación es usar la herramienta estadística del análisis de vías. Esta técnica fue desarrollada por Sewall Wright en las décadas de 1920 y 1930 como ayuda específica en la interpretación de datos observacionales (Shiple 2002, Iriondo et al. 2003). La modelación con ecuaciones estructurales provee de una técnica robusta para estudiar las interdependencias que existen dentro de un conjunto de variables correlacionadas (Nespolo et al. 2003, Arhonditsis et al. 2006).

Una hipótesis de trabajo acerca de las relaciones causales puede ser representada mediante un diagrama de vías (path diagram o directed graph) para luego ser evaluada estadísticamente. Este es una figura en la cual flechas (líneas con una direccionalidad) representan efectos directos de una variable aleatoria sobre otra, representadas éstas por recuadros rectangulares (Shiple 2002). Esta hipótesis gráfica es luego traducida a una expresión estadística, representada por el conjunto de

ecuaciones que describe las relaciones en el diagrama, mediante la utilización de separación d (d-separation en la literatura en inglés). D-separation representa las condiciones necesarias y suficientes para que dos variables aleatorias de la hipótesis (directed graph) sean probabilísticamente independientes condicionado en algún otro conjunto de variables (Shipley 2002).

La utilización del método de análisis de vías requiere de por lo menos cinco observaciones independientes por parámetro que se incluye en el modelo (Shipley 2002, Kline 2005). Se observó colinealidad tanto dentro de las variables del canto como las medidas de densidad de vegetación. Para dar cuenta de dicha colinealidad entre variables y reducir el número de parámetros a utilizar en el modelo, se utilizó el análisis de componentes principales para resumir tanto las variables del canto como de vegetación (Shipley 2002, Kline 2005, Carrascal et al.2009). Todos los demás requerimientos de este análisis — asociaciones lineales entre variables y aditividad— fueron cumplidos por los datos (Shipley 2002, Kline 2005).

### 3. RESULTADOS

#### Breve descripción del canto de anuncio de Hypsiboas pulchellus

El canto de anuncio de *H. pulchellus* es relativamente simple, y consta en su estructura básica de dos notas, las cuales son denominadas nota 1 y 2 respectivamente en el presente trabajo (Figura 5). Aunque estas notas difieren en algunos de sus parámetros, como ser su duración y frecuencia dominante (ver más abajo), su estructura general es muy similar, no presentando modulación en frecuencia (Figura 5 III), por lo que se puede decir que se trata de un canto monofásico (Littlejohn 2001).

En la nomenclatura de los parámetros del canto, se siguió a Duellman y Pyles (1983) y Littlejohn (2001). La duración de la nota 1 fue de 18,6 (media  $\pm$  3,9 DE, N= 50) ms., mientras que la duración de la nota 2 fue de 46,1 (media  $\pm$  10,0 DE, N= 50) ms. La duración total del canto tuvo un valor medio de 130,8 ms. ( $\pm$  28,1 DE, N = 50). Las dos notas que componen cada canto se encuentran separadas por un intervalo de 66,2 (media  $\pm$  17,6 DE, N= 50) ms. En cuanto a las características espectrales del canto, la nota 1 presenta en promedio 8 armónicos ( $\pm$  2) al igual que la nota 2 (Figura 6). Tanto para la nota 1 como para la nota 2, la mayor concentración de energía se dió en el primer armónico (= armónico dominante) por lo que la frecuencia dominante coincide en esta especie con la frecuencia fundamental (Figura 6). La frecuencia fundamental tuvo valores de 2624,97 (media  $\pm$  173,14 DE, N= 50) Hz y 2720,8 (media  $\pm$  191,5 DE, N= 50) Hz para las notas 1 y 2, respectivamente (ver Figuras 4 y 5).

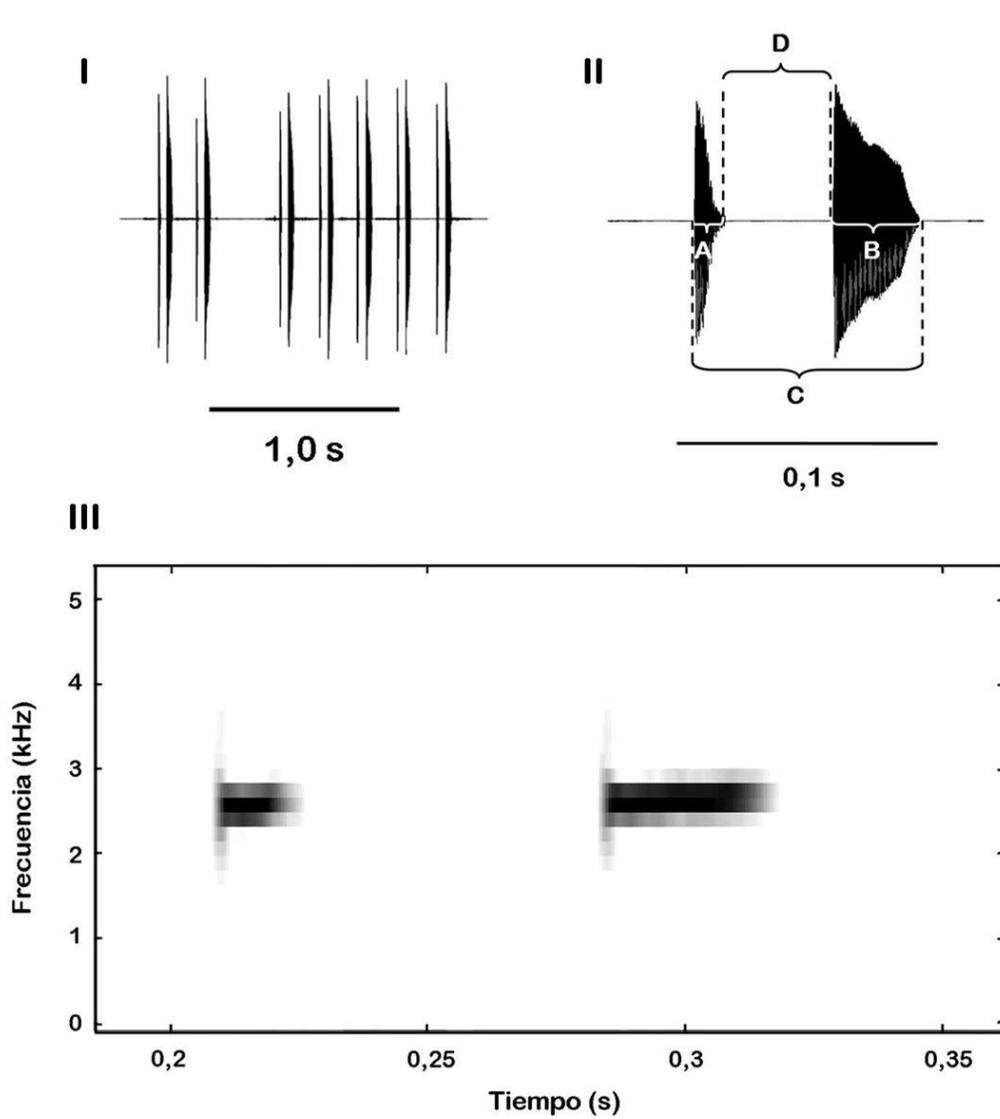


Figura 5. I) Oscilograma mostrando una secuencia de siete cantos; II) Oscilograma de un canto, mostrando la estructura del mismo: A= nota 1 (duración), B= nota 2 (duración), C= duración total del canto, D= intervalo entre notas; III) Espectrograma del canto mostrado en II), donde se observa la ausencia de modulación en frecuencia.

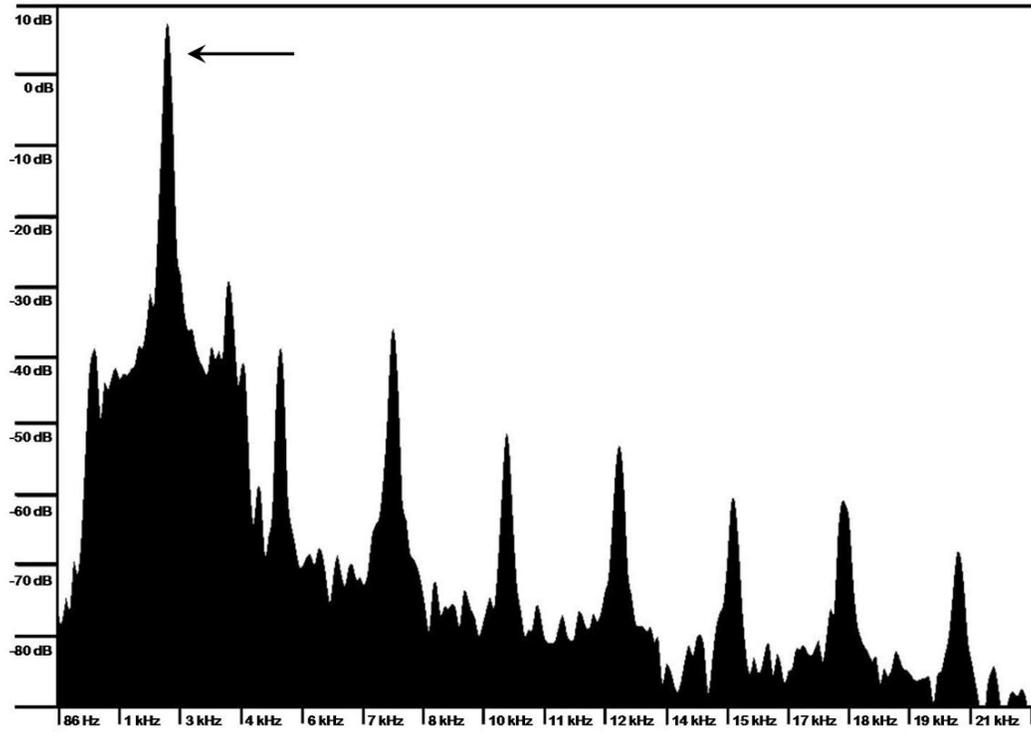
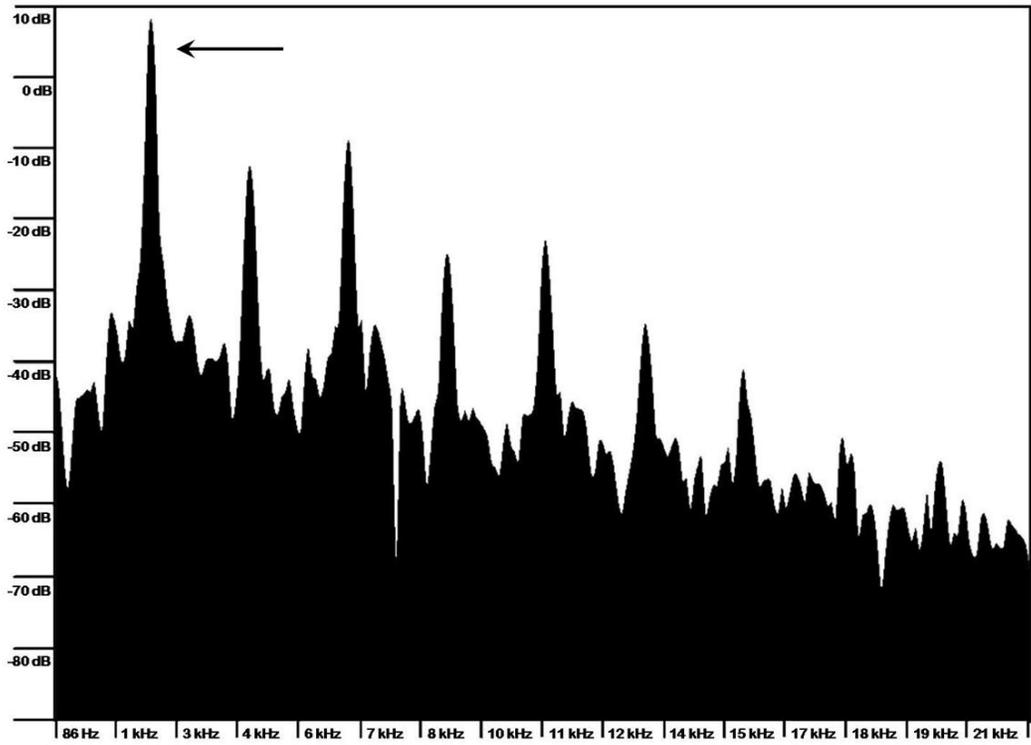


Figura 6. Espectros de fuerza de las notas 1 (A) y 2 (B) del canto de *H. pulchellus*. Con una flecha se marca el armónico dominante (que indica la frecuencia dominante). Como se ve, este coincide con el armónico (= frecuencia) fundamental.

## Evidencia experimental en favor de la existencia de flexibilidad en el canto

Las comparaciones intra-individuo antes y después del tratamiento con la clausura fueron significativamente diferentes en todos los individuos para las seis variables del canto consideradas (ver Tabla 1), con la excepción de dos individuos que mostraron resultados no significativos para dos variables (frecuencia dominante de la nota 1 y duración del canto). En las comparaciones pareadas, tanto las variables temporales como la frecuencia dominante de la nota 2 exhibieron diferencias significativas (ver Tabla 2). Todas las variables temporales mostraron una tendencia consistente entre sí, siendo la duración de ambas notas así como la totalidad del canto significativamente más largas cuando se emite el canto desde dentro de la clausura de poliuretano, mientras que el intervalo entre notas fue significativamente más corto. Estas diferencias fueron casi siempre significativas, con la excepción de la duración total del canto en un individuo (ver Tabla 1 E). Por el contrario, las variables espectrales no mostraron cambios consistentes cuando se compararon los cantos previo y durante el tratamiento con la clausura. Algunos individuos modularon hacia frecuencias dominantes más altas mientras que otros los hicieron hacia porciones más bajas del espectro (Tabla 1 A y B). Aun en este escenario, la mayoría de los cambios en la frecuencia dominante fueron significativos (Tabla 1 A y B). El análisis de componentes principales (ACP) de las variables temporales reveló una respuesta consistente en todas las ranas en el experimento con la clausura (Figura 7). En este análisis el eje 1 representa todas las variables temporales con la excepción de la duración de la nota 1, la cual se halla representada por el eje 2. Debido a que el tratamiento de la clausura puede introducir reverberaciones u otros efectos de degradación de las señales acústicas, se llevaron a cabo experimentos control en los cuales se re-grabaron las grabaciones de los machos emitidas desde dentro del la clausura de espuma de poliuretano. Estas grabaciones de playback se compararon

con las grabaciones originales. La mayoría de los parámetros del canto no fueron afectados por el tratamiento, con excepción de la duración del canto y duración de la nota 2. Sin embargo, en el caso de la duración de la nota 2, la magnitud del cambio observado durante el playback fue menor que el cambio producido por los individuos al modular el canto. Particularmente, debe resaltarse que la duración de la nota 1, el parámetro que fue más consistente y significativamente modulado por los machos testados no fue afectado por el procedimiento experimental (ver Tabla 3).

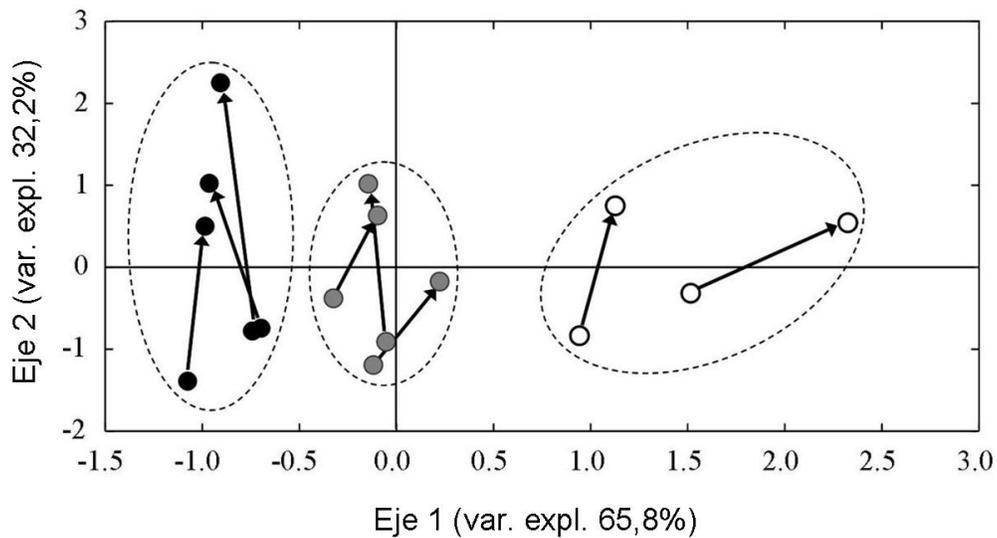


Figura 7. Gráfico de dispersión donde se muestra la trayectoria de las variables temporales del canto en machos testados en la clausura de poliuretano. Cada círculo donde se origina una flecha corresponde a un macho cantando en condiciones naturales, y las cabezas de flecha indican la “posición” final, correspondiente a ese mismo macho cantando desde dentro de la clausura. Los ejes (Ejes 1 y 2) corresponden al primer y segundo factor, respectivamente, obtenidos a partir del ACP realizado para las variables temporales. El Eje 1 representa todas las variables temporales a excepción de la duración de la nota 1, la cual está representada por el Eje 2. Los círculos negros corresponden a machos que se encontraban vocalizando en un tajamar la noche del 26/10/08; los círculos grises corresponden a machos vocalizando en un tajamar la noche del 5/1/09 y los círculos blancos corresponden a machos vocalizando en un arroyo con abundante vegetación tanto acuática como en las márgenes en la noche del 27/10/08.

Macho #	Media antes	Media después	t	g.l.	P
<b>FD1</b>					
1	2271,6	2303,2	-8,155	329	<0,001
2	2260,3	2365,6	-22,507	132	<0,001
3	2555,1	2571,6	-2,652	92	0,009
4	2671,1	2693,4	-2,26	59	0,028
5	2654,5	2622,8	4,048	49	<0,001
6	2505,7	2549,1	-5,738	149	<0,001
7	2646,1	2650,2	-0,506	110	0,614
8	2373,4	2376,8	-0,691	51	0,493
<b>FD2</b>					
1	2319,5	2335,9	-5,583	329	<0,001
2	2359,6	2441,4	-29,294	132	<0,001
3	2637	2687,4	-6,41	92	<0,001
4	2788,6	2851,3	-9,376	59	<0,001
5	2741,6	2714,4	4,258	49	<0,001
6	2571,6	2645,5	-9,689	149	<0,001
7	2773,4	2803,2	-4,835	110	<0,001
8	2481,2	2520,1	-6,060	51	<0,001
<b>DN1</b>					
1	0,022	0,028	-10,129	329	<0,001
2	0,020	0,034	-13,559	132	<0,001
3	0,017	0,023	-5,545	92	<0,001
4	0,020	0,024	-2,421	59	0,019
5	0,018	0,029	-7,289	49	<0,001
6	0,016	0,030	-24,849	149	<0,001
7	0,019	0,033	-15,309	110	<0,001
8	0,021	0,045	-12,628	51	<0,001
<b>DN2</b>					
1	0,045	0,053	-6,522	329	<0,001
2	0,039	0,049	-7,372	132	<0,001
3	0,040	0,048	-3,828	92	<0,001
4	0,061	0,075	-4,668	59	<0,001
5	0,052	0,061	-5,525	49	<0,001
6	0,031	0,042	-16,108	149	<0,001
7	0,040	0,046	-5,030	110	<0,001
8	0,037	0,048	-7,012	51	<0,001
<b>DC</b>					
1	0,119	0,128	-5,442	329	<0,001

	2	0,130	0,134	-2,759	132	0,007
	3	0,125	0,134	-3,073	92	0,003
	4	0,174	0,199	-4,800	59	<0,001
	5	0,156	0,169	-3,754	49	<0,001
	6	0,094	0,103	-9,584	149	<0,001
	7	0,104	0,105	-0,897	110	0,372
	8	0,106	0,118	-5,567	51	<0,001
<hr/>						
	IEN					
	1	0,052	0,047	5,812	329	<0,001
	2	0,071	0,050	18,345	132	<0,001
	3	0,068	0,063	2,312	92	0,023
	4	0,093	0,100	-2,135	59	0,037
	5	0,087	0,079	3,003	49	0,004
	6	0,047	0,031	24,908	149	<0,001
	7	0,045	0,026	18,718	110	<0,001
	8	0,049	0,025	10,832	51	<0,001

Tabla 1. Test de Student para muestras independientes, mostrando las diferencias intra-individuales antes y después del tratamiento experimental con la clausura. FD1= frecuencia dominante de la nota 1; FD2= frecuencia dominante de la nota 2; DN1= duración de la nota 1; DN2= duración de la nota 2; DC= duración total del canto; IEN= duración del intervalo entre notas.

	Media (antes / después)	Desv. Est. (antes / después)	t	P
FD1	2491,6 / 2516,6	169,6/ 147,5	-1,789	0,117
FD2	2583,8 / 2625,2	183,3 / 178,8	-3,283	0,013
DN1	0,019 / 0,031	0,002 / 0,007	-5,276	0,001
DN2	0,043 / 0,053	0,010 / 0,010	-11,953	<0,001
DC	0,126 / 0,137	0,027 / 0,033	-4,231	0,004
IEN	0,064 / 0,053	0,019 / 0,027	3,027	0,019

Tabla 2. Test de Student para muestras pareadas mostrando las diferencias inter-individuo tanto para variables temporales como espectrales del canto antes y después del tratamiento con la clausura (N=8). FD1=frecuencia dominante de la nota 1; FD2=frecuencia dominante de la nota 2; DN1=duración de la nota 1; DN2= duración de la nota 2; DC= duración total del canto; IEN=intervalo entre notas.

	Media (antes / después)	Desv. Est. (antes / después)	t	p
DF1	2468,3 / 2455,1	168,8/ 170,1	1,2	0,28
DF2	2561,3 / 2551,5	185,7 / 188,1	1,05	0,33
DN1	0,019 / 0,019	0,002 / 0,004	-0,38	0,71
DN2	0,042 / 0,047	0,009 / 0,013	-2,98	0,02
CD	0,121 / 0,128	0,026 / 0,031	-2,61	0,04
INI	0,060 / 0,061	0,0173 / 0,0174	-2,07	0,08

Tabla 3. Resultados del experimento utilizando la técnica de playback para evaluar el efecto de la clausura en las variables del canto. Test de Student para muestras pareadas mostrando las diferencias inter-individuo para los atributos temporales y espectrales antes y después de la clausura (N=7). FD1=frecuencia dominante de la nota 1; FD2=frecuencia dominante de la nota 2; DN1=duración de la nota 1; DN2= duración de la nota 2; DC= duración total del canto; IEN=intervalo entre notas.

### Conexión causal entre ambiente y estructura del canto

Dada la fuerte correlación tanto dentro de las variables que describen la estructura de la vegetación como dentro de las variables del canto, se utilizó ACP para evitar la colinealidad entre variables y reducir su dimensionalidad. Esto último se hizo debido a una particularidad del análisis de vías, por la cual el número de variables a ser incluidas en el modelo está restringido por el número total de observaciones disponibles.

El ACP para la estructura de la vegetación arrojó tres factores que dieron cuenta del 86% de la variación. El primer factor (factor 1) tuvo mayor peso para las variables de vegetación in situ y a una distancia de 1 metro de la rana; el factor 2 tuvo mayor peso para la vegetación situada a 2 metros de la rana; por último, el factor 3 tuvo pesos elevados para casi todas las variables originales. El ACP para las

variables del canto arrojó dos factores que explicaron el 82,5% de la variación observada en los datos. El Factor 1 representó a aquellas variables asociadas con la estructura temporal del canto, mientras que en Factor 2 representó a las variables espectrales (frecuencia dominante de la primer y segunda nota).

Estos cinco factores fueron tomados como nuevas variables, junto con el peso, la longitud hocico-cloaca, el porcentaje de agua en el ambiente y la temperatura, para el próximo paso antes de construir el modelo. Como un primer paso en la identificación de los determinantes abióticos de la estructura del canto, se llevaron a cabo dos análisis mediante Modelos Aditivos Generalizados (GAM por sus siglas en inglés) utilizando los factores extraídos del ACP para el canto como variables dependientes y el resto de las variables como potenciales variables independientes. Estos análisis sugirieron un importante efecto de la vegetación local (representada por el Factor 1 del ACP de vegetación), la temperatura y el porcentaje de agua en el ambiente como determinantes de las variables temporales del canto (primer factor en el ACP del canto). Por otra parte, las variables espectrales (segundo factor del ACP para el canto) solo se relacionaron con el tamaño corporal (representado por la variable “peso”) de los machos vocalizadores. A partir de estos resultados, se construyó un modelo de vías que, además, indicó la existencia de un efecto de la vegetación local y el porcentaje de agua en el ambiente en la temperatura del sitio de canto, la cual a su vez afectó el tamaño de los machos que se hallaban cantando (ver Figura 8). Este modelo fue robusto y ampliamente congruente con las observaciones ( $p=0.64$ ;  $RMS=0.081$ ). Todas las vías fueron significativas a un nivel de confianza del 0,05, con la excepción de la vía que conecta el porcentaje de agua en el ambiente con la temperatura, la cual fue marginalmente significativa (ver Figura 8).

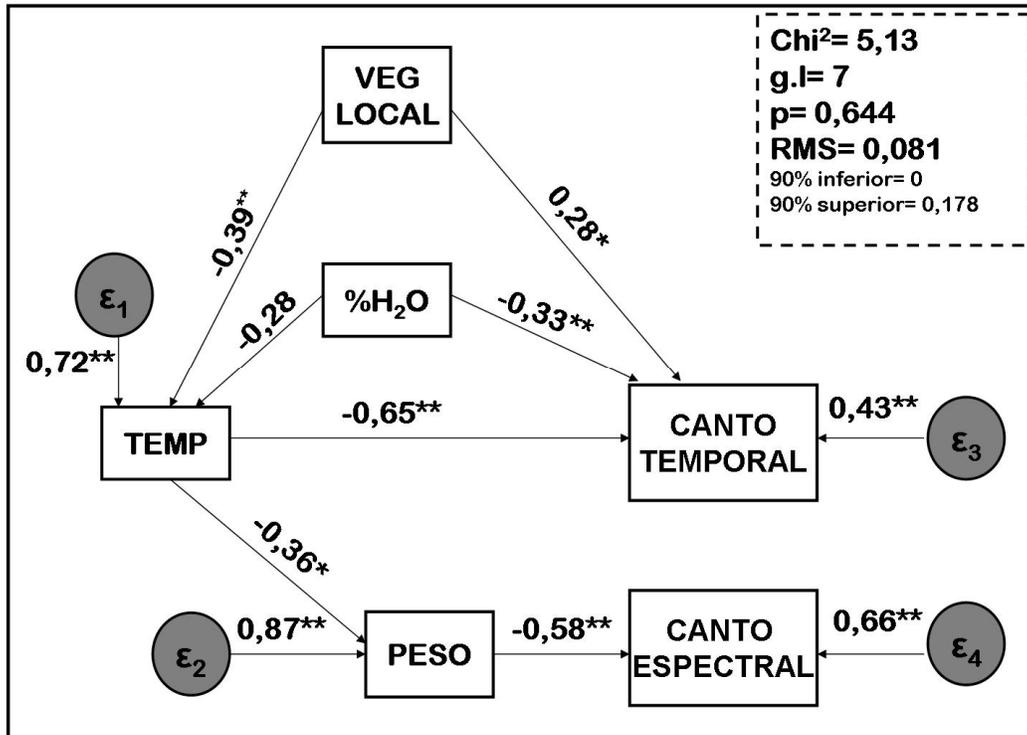


Figura 8. Análisis de vías representando el modelo causal que mejor explicó la relación entre las variables bióticas y abióticas del sistema. Los coeficientes de las vías entre variables se indican en cada caso. veg. local= vegetation local, correspondiente al primer factor del ACP para densidad de la vegetación; %H<sub>2</sub>O= porcentaje de agua sin cobertura de vegetación en el sitio de canto; temp= temperatura; canto temporal y canto espectral= parámetros temporales y espectrales del canto, respectivamente. Las Epsilon (ε) representan las varianzas no explicadas por el modelo.

En resumen, el diagrama de vías indicó la existencia de dos grandes determinantes de los atributos del canto. Por un lado, las condiciones ambientales afectan en forma consecuente los atributos temporales del canto. Por otra parte, los atributos individuales (masa corporal) están afectando la estructura espectral de los cantos. Sin embargo, es importante resaltar que las condiciones ambientales, a través de su efecto en el tamaño corporal de los individuos que se encuentran cantando, podrían estar afectando indirectamente la estructura espectral del canto. En este sentido, se evaluaron modelos alternativos que conectaban las variables ambientales con los atributos

espectrales. Sin embargo, estos modelos no predijeron una estructura de covarianza que fuera consistente con los datos observados (ver Apéndice).

### Análisis a nivel de macroambientes

Los gráficos de la Figura 9 muestran box plots con los coeficientes de correlación de Spearman para todas las variables temporales y espectrales, evaluadas en el rango de macroambientes en que se registraron machos vocalizando (ver Materiales y Métodos para su descripción). Estos resultados están en conformidad tanto con los obtenidos mediante el análisis de vías como en los experimentos con la clausura de poliuretano. Todos los parámetros temporales mostraron una fuerte correlación con la complejidad macroambiental. Sin embargo, este patrón no se hizo evidente cuando el mismo análisis se aplicó a los atributos espectrales del canto, los cuales no mostraron una correlación significativa con la estructura del hábitat.

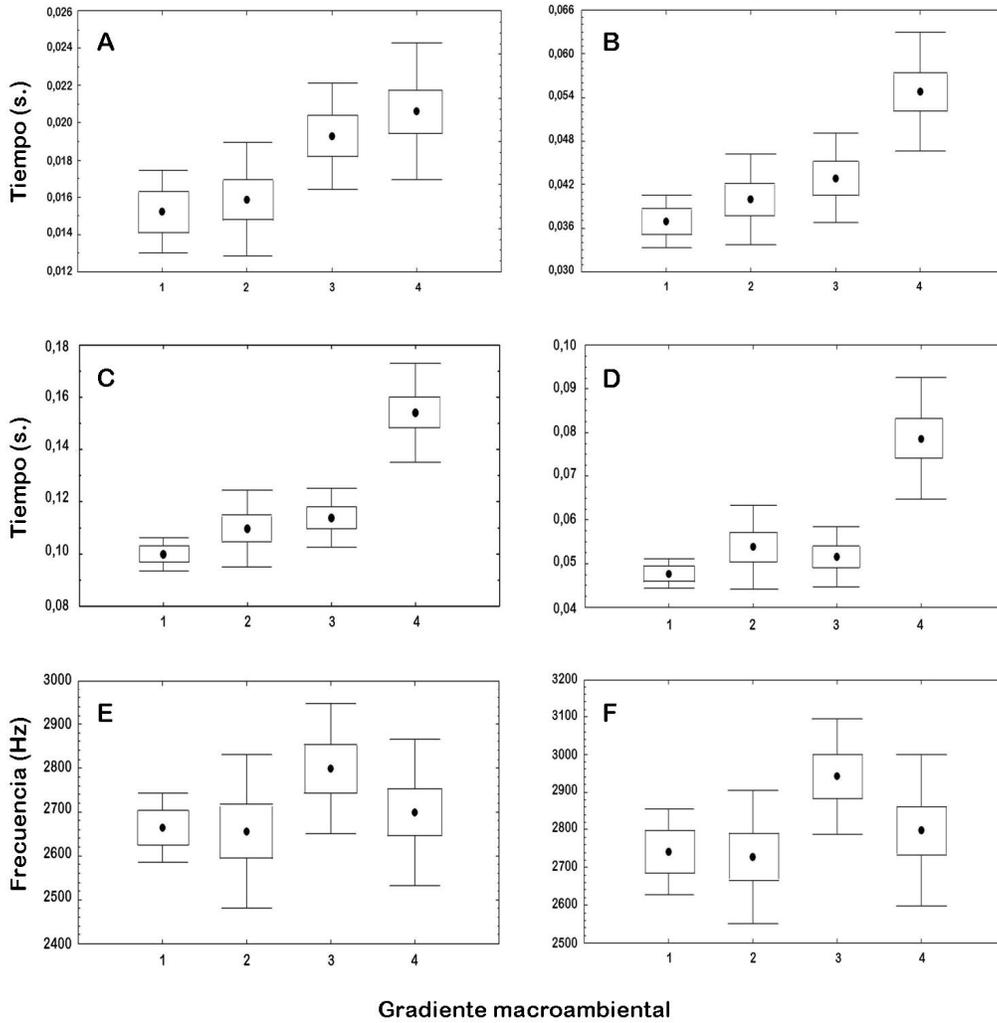


Figura 9. Correlaciones entre los atributos temporales y espectrales del canto y la estructura del hábitat a nivel macroambiental. Los coeficientes de correlación de Spearman fueron calculados separadamente para cada variable en función de la complejidad del hábitat A. Duración de la nota 1 ( $R = 0,65$ ;  $p < 0,01$ ); B. Duración de la nota 2 ( $R = 0,81$ ;  $p < 0,01$ ); C. Duración total del canto ( $R = 0,85$ ;  $p < 0,01$ ); D. Duración de intervalo entre notas ( $R = 0,73$ ;  $p < 0,01$ ); E. Frecuencia dominante de la nota 1 ( $R = -0,02$ ;  $p = 0,91$ ); F. Frecuencia dominante de la nota 2 ( $R = 0,02$ ;  $p = 0,90$ ). Los valores en el eje x hacen referencia al macroambiental: 1) tajamares sin vegetación; 2) tajamares con macrófitas emergentes y flotantes pequeñas ( $\leq 0,5$  m); 3) tajamares con macrófitas emergentes y/o flotantes medianas ( $0,5$  m  $<$  altura  $\leq 1,0$  m), y con vegetación arbustiva alrededor; 4) arroyo con macrófitas emergentes de gran tamaño (altura  $> 1,0$  m), ribera con arbustos y árboles medianos.

## 4. DISCUSIÓN

Existe una gran cantidad de literatura referente a la adaptación de las señales acústicas al ambiente en el que éstas son emitidas, como se explicita a través de la Hipótesis de Adaptación Acústica (HAA) (Morton 1975, Hansen 1979). Los resultados experimentales así como los derivados de correlaciones obtenidos presentados en esta tesis concuerdan con las predicciones derivadas de la HAA para las variables temporales, pero no para las espectrales. En este sentido, el tratamiento experimental con la clausura resultó en la producción de notas más largas y cantos de mayor duración, mientras que los cambios en las variables espectrales fueron inconsistentes. Además, los resultados obtenidos permitieron identificar claramente dos grupos de variables que se encuentran afectando los parámetros del canto dados en un determinado ambiente. Una de estas vías determinantes es un complejo de factores relacionados con el ambiente (vegetación, porcentaje de agua en el ambiente y temperatura del sitio de canto), las cuales modulan los atributos temporales de los cantos (Figura 8). De esta forma, la duración de cada nota, la duración total del canto y el intervalo entre notas se hacen más largos a medida que se incrementa densidad de la vegetación (aumenta la complejidad del microhábitat). La temperatura y la proporción del ambiente de agua abierta mostraron, por su parte, una correlación negativa con los parámetros temporales del canto. El otro determinante principal se encuentra relacionado a características individuales de los individuos vocalizantes, y se encuentra representado por la masa corporal. Esto sugiere que el ambiente podría estar afectando la estructura espectral de los cantos a través de un efecto indirecto, mediado por la identidad (características individuales) de cada macho vocalizante (Figura 8). Considerando que se ha puesto mucha atención a la variación en la estructura del canto como consecuencia de los atributos individuales de los machos vocalizantes, la potencial implicancia de la flexibilidad del canto ha sido muy poco considerada. Además, las variaciones en el canto han sido analizadas

mayormente a nivel poblacional, raramente explorando la capacidad a nivel individual de ajustar los cantos a las propiedades acústicas del ambiente local (Lardner y bin Lakim 2002).

### Flexibilidad fenotípica y atributos individuales

En principio, sería posible que el patrón de correlación entre variables ambientales y los atributos del canto observados en la naturaleza y capturados en el análisis de vías, pudiera ser explicado por el hecho de que diferentes machos, con diferentes atributos individuales, se encontraran cantando en sitios alternativos. Sin embargo, los resultados experimentales aquí presentados muestran que los machos de *H. pulchellus* tienen el potencial de ajustar sus cantos en respuesta al ambiente abiótico local que experimentan. El patrón de respuesta de los machos en el tratamiento experimental es congruente tanto con las predicciones de la HAA como con la asociación detectada entre el ambiente abiótico y los atributos temporales del canto en el modelo resultante del análisis de vías. En este sentido, la duración de cada una de las notas, así como la duración total del canto fueron significativamente más largas cuando se registraron dentro de la clausura. Esto no se observó para el intervalo entre notas, el cual se redujo significativamente en el tratamiento experimental (Tabla 1). Por otra parte, pesar de ser significativos, los cambios en los parámetros espectrales mostraron respuestas contrarias entre los diferentes individuos. Más aún, no se encontró una relación consistente entre los atributos espectrales y las variables espectrales en los experimentos a campo (Figura 9, Tabla 2). No obstante, esto podría estar indicando que es posible que los atributos espectrales de los cantos también sean flexibles, dado que los cambios en las frecuencias dominantes fueron siempre significativos, pero determinados por la interacción entre atributos individuales y del ambiente (López et al. 1988, Kiss et al. 2009). En esta línea, sí se encontró un efecto del ambiente mediado por

el peso corporal de los individuos que se encontraban vocalizando. Este resultado subraya tanto el rol de los desplazamientos de cada individuo entre los diferentes sitios de canto, como la decisión de cada macho de vocalizar o no en determinadas condiciones, como determinantes fundamentales de la coincidencia entre la estructura del canto y las características del microambiente en que éste se produce. Los determinantes de este tipo de decisiones son pobremente conocidos, pero probablemente impliquen el estado de reservas energéticas dependientes del tamaño de los organismos (Mc Lister 2001, Kiss et al. 2009), el efecto de la temperatura en la actividad metabólica (Mc Lister 2001, McNab 2002), y sus efectos en el potencial de asignación de energía al esfuerzo reproductivo. En este sentido, serían necesarios nuevos estudios experimentales, tales como la traslocación de individuos entre ambientes con propiedades acústicas contrastantes, o exposición de los individuos al vocalizar a diferentes temperaturas. Por otra parte, otros tipos de análisis, en una línea más teórica, enfocados por ejemplo a través de la programación dinámica de las decisiones individuales de vocalizar en función del tamaño corporal o las reservas energéticas podrían aportar en el conocimiento de esta área de investigación, la cual ha sido muy poco explorada (Lucas y Howard 1995, Lucas et al. 1996).

Explorando los mecanismos próximos y últimos implicados en la modulación del canto

La existencia de flexibilidad en los atributos del canto llama la atención hacia sus mecanismos subyacentes, así como a su relación con la fisiología y morfología de los organismos que la exhiben. Este tipo de flexibilidad asume la existencia de una respuesta de retroalimentación, que involucraría un proceso cognitivo entre la emisión de la señal y la detección de su potencial atenuación y/o degradación por parte del propio emisor (Kelley 2004, Eliades y Wang 2008). De ser así, los

anfibios serían el primer taxon no endotermo en que se reporta la utilización de retroalimentación acústica para ajustar sus señales a las propiedades de propagación del ambiente (Lardner y bin Lakim 2002, Eliades y Wang 2008). La energética de la producción de cantos en los anfibios ha sido bien estudiada (Bucher et al. 1982, Ryan et al. 1983, Wells y Taigen 1989, Pough et al. 1992). Gran parte de la variación en el costo metabólico del canto es explicada por la variación en las características temporales del mismo, particularmente la duración del canto y la tasa de emisión, ya sea medida en notas, pulsos o cantos por unidad de tiempo, o una medida combinada que se denomina esfuerzo de canto (Gerhardt 1994). Por ejemplo, en *Rana virgatipes* se ha observado que la variación en el costo energético del canto compromete la asignación de energía a otras características de historia de vida como ser la tasa de crecimiento (Given 1988). Esto sugiere que la existencia de flexibilidad podría afectar significativamente el presupuesto energético de los individuos, a la vez que su estado energético podría limitar su capacidad de exhibir flexibilidad en la estructura de sus vocalizaciones. De manera similar, la correlación inversa entre la frecuencia dominante y el tamaño corporal ha sido bien reportada tanto a nivel intraespecífico como interespecífico, representando una restricción directa a los cambios en los atributos espectrales del canto (Gerhardt y Huber 2002). Los casos reportados para ciertas especies en los cuales los individuos producen frecuencias sustancialmente más bajas de lo esperado según su tamaño corporal, típicamente implican características anatómicas especiales que permiten una desviación del patrón promedio (Ryan y Drewes 1990, Fitch 1999).

La flexibilidad en el canto en respuesta a las propiedades acústicas del microambiente podría también tener consecuencias en la forma en como las hembras de la especie perciben dicha señal. Se sabe para ciertos casos, que la flexibilidad puede mejorar la transmisión de la señal, y por tanto, la atracción de las hembras (Endler 1992). Sin embargo, la flexibilidad podría también implicar un escenario más

complejo de lo esperado para la transmisión de la señal. Es así que cambios en las propiedades del canto en respuesta al ambiente local experimentado podrían llevar a una imposibilidad de reconocer la señal por parte de las hembras. La ruptura en el reconocimiento de pareja podría, eventualmente, llevar al aislamiento reproductivo y con el tiempo, a la especiación (Foster 1999, Boul et al. 2007). Asimismo, la variación en la estructura del canto podría favorecer la selección en favor de determinadas hembras que pudieran responder a este tipo de señal, en el sentido que hembras con un sesgo preexistente hacia los nuevos atributos exhibidos en el canto de los machos serían atraídas en forma diferencial (Endler y Basolo 1998). Este contexto deja abierta la consideración de la interrelación entre los fenotipos flexibles y la selección sexual, y como los cambios en el comportamiento sexual inducidos por el ambiente pueden marcar el contexto a través del cual la selección conduce los cambios evolutivos (Price 2006).

### El desfase entre la escala de análisis y la escala del proceso

El estudio de las correlaciones entre el hábitat y los atributos del canto ha estado enfocado principalmente desde una escala de macrohábitat (Bosch y de la Riva 2004, Yao y Lin 2004). En general, existe poco consenso en la literatura publicada acerca de los mecanismos subyacentes a la modulación del canto en los diferentes ambientes –testeo de la HAA– para el caso de los anuros (Bosch y de la Riva 2004). Esto podría deberse a un desfase entre la escala a la cual los procesos de hecho operan, y la escala a la cual sus efectos son analizados. Si la estructura del microambiente o ambiente local donde el individuo se encuentra vocalizando es el principal determinante de los atributos del canto, como sugieren los resultados aquí presentados, necesariamente existirán inconsistencias cuando las correlaciones se hagan considerando una escala mayor, a nivel macroambiental por ejemplo (Penna y Solis 1998, Kime et al. 2000, Bosch y de la Riva 2004).

Más aún, es de importancia reconocer dos roles interconectados, pero aún así diferentes, del canto de anuncio de los anfibios, que operan cada uno a distintas escalas espaciales. A una escala más amplia, ciertas características de los cantos podrían funcionar como “atractores” de hembras a larga distancia hacia los machos coespecíficos y los sitios de reproducción en si. Este es uno de los roles que juega la formación de coros (Feng y Schul 2007). Una vez que las hembras se encuentran cerca de los machos, estas podrían utilizar señales más finas para distinguir entre machos de su misma especie, y orientarse hacia el individuo de su elección (Feng y Schul 2007, Gerhardt y Bee 2007). Esto implica que los procesos que determinan la asociación entre la estructura del canto y el ambiente podrían estar cambiando a diferentes escalas de observación, un punto poco explorado que podría dar cuenta del desfase antes mencionado entre el tipo de hábitat y el ajuste en la estructura del canto reportado en la literatura (Feng y Schul 2007).

## Comentarios finales

La relación entre la estructura del canto y las propiedades acústicas del ambiente tiene amplias implicancias tanto a nivel del desempeño ecológico y comportamental de los organismos como a nivel evolutivo. Mientras que la variación natural observada en este rasgo ha sido estudiada asumiendo que se trataba de un rasgo fijo (véase López et al. 1988 para una excepción), los resultados que aquí se dan a conocer sugieren que la plasticidad fenotípica, expresada como flexibilidad en ciertos atributos del canto, también está fuertemente implicada. Al día de hoy, este marco teórico de trabajo prácticamente no ha sido aplicado al estudio de la variación intra-individuo en la estructura del canto. Los resultados de la presente tesis sugieren que los principales atributos del canto de anuncio de *H. pulchellus* estarían de hecho implicando un componente de flexibilidad en respuesta a la acústica del ambiente.

Además, los cambios en los atributos del canto fueron consistentes con la Hipótesis de Adaptación Acústica, tanto a partir de los resultados experimentales como las correlaciones con los datos de campo. Una implicancia adicional para la conceptualización del problema es el hecho que la escala temporal y espacial de los cambios en la estructura del canto podría ser mucho menor de lo que se ha considerado tradicionalmente. Este estudio implicó un primer paso para avanzar en el conocimiento de los determinantes de la conexión entre la estructura del canto y el ambiente, poniendo especial énfasis en el potencial rol de la flexibilidad fenotípica y desentrañando la asociación entre el ambiente abiótico, los rasgos individuales, y las características del canto.

## 5. PERSPECTIVAS

Los resultados de esta tesis son concluyentes acerca del rol del ambiente abiótico y de la estructura del hábitat en la estructura temporal del canto de *Hypsiboas pulchellus*. Asimismo, se presenta evidencia de flexibilidad fenotípica en algunos parámetros temporales, particularmente en lo que hace a la duración de la nota 1. Este trabajo genera perspectivas para el estudio de la plasticidad en el canto en anuros. Específicamente, sería fundamental evaluar la existencia de plasticidad en diversas especies, la naturaleza de la norma de reacción en cada una de estas y su eventual dependencia de la historia evolutiva del grupo. Asimismo la identificación de los determinantes de esta flexibilidad requiere del análisis de su interacción con atributos como lo son el tamaño corporal, la morfología y las interacciones ecológicas que los individuos potencialmente presenten.

Otro punto importante a resaltar es que la posibilidad de mostrar una respuesta plástica frente a cambios en el ambiente está probablemente asociada a factores fisiológicos. Los cantos de las ranas se encuentran entre las actividades biomecánicas energéticamente más demandantes para animales ectotermos (Taigen y Wells 1985, Wells y Taigen 1986). Particularmente, el costo y la eficiencia de las vocalizaciones en los anuros son dependientes de factores como la temperatura (McLister 2001, Kiss et al. 2009), y la masa corporal (McLister 2001). Por otra parte, estos factores están correlacionados con un número de variables del canto (Zweifel 1968, Gerhardt 1978, Gayou 1984). Dado su rol central en la reproducción, los cantos de anuncio están sujetos a un fuerte régimen de selección sexual (Gerhardt 1994). En varias especies de anfibios los machos adultos presentan un amplio rango de tamaño y pueden vocalizar en un amplio rango de temperaturas (Kiss et al. 2009). Por lo tanto, la influencia ya sea de la masa corporal o de la temperatura en la energética de la producción de señales acústicas puede ser de importancia biológica para la especie y

en particular en lo que hace a su capacidad de modular el canto en respuesta al ambiente. Por otra parte, la selección de un amplio rango de microambientes para vocalizar ha sido ampliamente reportada para el grupo. La existencia de flexibilidad en el canto en respuesta a condiciones locales, sugiere que la selección de microambientes puede ser parte de las estrategias desplegadas por los anfibios para maximizar la propagación de su señal, un comportamiento que debería interactuar con la estrategia de modulación del canto desplegada.

Por último, falta explorar cuales son las perspectivas que la existencia de fenotipos flexibles como el aquí estudiado pueden proveer en cuanto a las dimensiones del cambio evolutivo y la adaptabilidad de los organismos. En la literatura existen numerosas referencias a los cambios fenotípicos y su potencialidad en cuanto a la explotación de ambientes diferentes o heterogéneos en el tiempo, otorgando así ventajas en cuanto a la eficacia de los individuos (capacidad de sobrevivencia y reproducción) (Robinson y Dukas 1999, Piersma y Drent 2003, Gabriel et al. 2005). Sin embargo, un planteo de este tipo, no mecanicista, donde la capacidad de presentar cambios fenotípicos es adaptativa per se, no es suficiente para dar cuenta del efecto en términos evolutivos de la interacción fenotipo ambiente (Piersma y Drent 2003). Es así que estos autores sugieren la necesidad de explorar la variación intra-individuo evaluando que tan bien se comportan las variantes fenotípicas en términos de sobrevivencia y/o éxito reproductivo de los individuos que las presentan. A su turno, el éxito relativo de estas variantes y la forma de interacción fenotipo/ambiente podrá dar lugar a la fijación de una o algunas de estas variantes (a través de lo que se denomina Efecto Baldwin; Robinson y Dukas 1999). O, por el contrario, en ambientes lo suficientemente variables o impredecibles, la selección podrá actuar en favor de la permanencia de rasgos fenotípicos que permanezcan reactivos al ambiente (Robinson y Dukas 1999). En cuanto al problema abordado en esta tesis, este tipo de

aproximación permite abordar la relación entre el diseño de la señal (a través de la HAA), las presiones ecológicas en una escala temporal muy corta (la performance de cada individuo) y su efecto en la adquisición de pareja y posiblemente, su efecto en la descendencia.

## APÉNDICE

A continuación se incluyen una serie de tablas que resumen modelos de vías alternativos. Para todos los casos se presentan los parámetros del modelos.

Abreviaturas: “F1VEG” y “F2VEG”= primer y segundo eje, respectivamente, del ACP para los datos de vegetación; “PERWATER”= porcentaje de agua en el ambiente; “TEMP”= temperatura; “F1CALL” y “F2CALL”= primer y segundo eje, respectivamente, del ACP para las variables del canto; “WEIGHT”= peso. “EPS” son las varianzas de las variables endógenas, no explicadas por el modelo.

### Modelo alternativo 1:

	Estimación del parámetro	Error standard	Estadístico T	p-valor
[F1VEG] → [F1CALL]	0,523	0,128	4,091	<0,01
[F1VEG] → [F2CALL]	0,171	0,178	0,958	0,338
[PERWATER] → [F1CALL]	-0,083	0,171	-0,484	0,628
[PERWATER] → [F2CALL]	-0,246	0,191	-1,291	0,197
[PERWATER] → [TEMP]	-0,413	0,163	-2,536	0,011
[F2VEG] → [F1CALL]	-0,144	0,166	-0,868	0,386
[F2VEG] → [F2CALL]	0,082	0,192	0,429	0,668
[F2VEG] → [TEMP]	0,110	0,182	0,607	0,544
(EPS1) → [F1CALL]	—	—	—	—
(EPS2) → [F2CALL]	—	—	—	—
(EPS3) → [TEMP]	—	—	—	—
(EPS1) → (EPS1)	0,709	0,129	5,492	<0,01
(EPS2) → (EPS2)	0,938	0,084	11,161	<0,01
(EPS3) → (EPS3)	0,852	0,115	7,409	<0,01

Parámetros del modelo:  $\chi^2= 21,51$ ; g.l= 4; p-valor  $\chi^2= <0,01$ ; RMS= 0,16; límite inferior 90%= 0,16; límite superior 90%= 0,48.

## Modelo alternativo 2:

	Estimación del parámetro	Error standard	Estadístico T	p-valor
[F1VEG] → [F1CALL]	0,493	0,128	3,850	0,000
[F1VEG] → [TEMP]	-0,454	0,137	-3,317	0,001
[WEIGHT] → [F1CALL]	0,073	0,155	0,471	0,638
[WEIGHT] → [F2CALL]	-0,615	0,117	-5,244	0,000
[TEMP] → [WEIGHT]	-0,356	0,159	-2,233	0,026
[F2VEG] v[F1CALL]	-0,183	0,150	-1,217	0,223
[F2VEG] → [F2CALL]	0,045	0,144	0,311	0,756
[F2VEG] → [TEMP]	-0,051	0,162	-0,312	0,755
[F1VEG] → [F2CALL]	0,201	0,142	1,413	0,158
(EPS1) → [F1CALL]	—	—	—	—
(EPS2) → [F2CALL]	—	—	—	—
(EPS3) → [TEMP]	—	—	—	—
(EPS4) → [WEIGHT]	—	—	—	—
(EPS1) → (EPS1)	0,707	0,129	5,469	0,000
(EPS2) → (EPS2)	0,620	0,137	4,508	0,000
(EPS3) → (EPS3)	0,791	0,125	6,329	0,000
(EPS4) → (EPS4)	0,874	0,113	7,711	0,000

Parámetros del modelo:  $\chi^2= 13,83$ ; g.l= 5; p-valor  $\chi^2= 0,017$ ; RMS= 0,095,  
límite inferior 90%= 0: límite superior 90%= 0,36.

Modelo alternativo 3:

	Estimación del parámetro	Error standard	Estadístico T	p-valor
[F1VEG] → [F1CALL]	0,283	0,130	2,170	0,030
[F1VEG] → [PERWATER]	0,222	0,171	1,293	0,196
[F1VEG] → [TEMP]	-0,392	0,142	-2,751	0,006
[PERWATER] → [F1CALL]	-0,325	0,130	-2,496	0,013
[PERWATER] → [TEMP]	-0,284	0,154	-1,847	0,065
[TEMP] → [F1CALL]	-0,647	0,126	-5,134	0,000
[TEMP] → [WEIGHT]	-0,356	0,159	-2,233	0,026
[WEIGHT] → [F2CALL]	-0,583	0,120	-4,840	0,000
(EPS1) → [F1CALL]	—	—	—	—
(EPS2) → [F2CALL]	—	—	—	—
(EPS3) → [PERWATER]	—	—	—	—
(EPS4) → [TEMP]	—	—	—	—
(EPS5) → [WEIGHT]	—	—	—	—
(EPS1) → (EPS1)	0,426	0,115	3,722	0,000
(EPS2) → (EPS2)	0,660	0,141	4,696	0,000
(EPS3) → (EPS3)	0,951	0,076	12,505	0,000
(EPS4) → (EPS4)	0,717	0,134	5,354	0,000
(EPS5) → (EPS5)	0,874	0,113	7,711	0,000

Parámetros del modelo:  $\chi^2= 5,13$ ; g.l= 7; p-valor  $\chi^2= 0,64$ ; RMS= 0,081,  
límite inferior 90%= 0: límite superior 90%= 0,18.

## BIBLIOGRAFÍA

- Alberts SC, Altmann J (2006) The evolutionary past and the research future: Environmental variation and life history flexibility in a primate lineage. En: *Reproduction and Fitness in Baboons: Behavioral, ecological, and life history perspectives*. Editores: L Swedell y S Leigh. Springer, New York. págs. 277-303.
- Arhonditsis GB, Stow CA, Steinberg LJ, Kenney MA, Lathrop RC, McBride SJ, Reckhow KH (2006) Exploring ecological patterns with structural equation modeling and Bayesian analysis. *Ecol Modell* 192: 385-409.
- Aylor D (1972) Sound transmission through vegetation in relation to leaf area density, leaf width, and breadth of canopy. *J Ac Soc Am* 51: 411-414.
- Badyaev AV, Leaf ES (1997) Habitat associations of song characteristics in *Phylloscopus* and *Hippolais* warblers. *The Auk* 114: 40-46.
- Bee MA (2003) Experience-based plasticity of acoustically evoked aggression in a territorial frog. *J Comp Phys A* 189: 485-496.
- Bernal XE, Page RA, Rand AS, Ryan MJ (2007) Cues for eavesdroppers: Do frog calls indicate prey density and quality? *Am Nat* 169: 409-415.
- Berrigan D, Scheiner SM (2004) Modeling the evolution of phenotypic plasticity. En: *Phenotypic plasticity. Functional and conceptual approaches*. Editores: TJ DeWitt y SM Scheiner. Oxford University Press, New York. págs. 82-97.
- Blumenrath SH, Dabelsteen T (2004) Degradation of Great Tit (*Parus major*) song before and after foliation: Implications for vocal communication in a deciduous forest. *Behaviour* 141: 935 - 958.
- Boncoraglio G, Saino N (2007) Habitat structure and the evolution of bird song: A meta-analysis of the evidence for the Acoustic Adaptation Hypothesis. *Func Ecol* 21: 134-142.

- Bozinovic F (2002) *Fisiología ecológica y evolutiva*. Ediciones Universidad Católica de Chile, Santiago. 531 págs.
- Bosch J, de la Riva I (2004) Are frog calls modulated by the environment? An analysis with anuran species from Bolivia. *Can J Zool* 82: 880–888.
- Boul KE, Funk WC, Darst CR, Canatella DC, Ryan MJ (2007) Sexual selection drives speciation in an Amazonian frog. *Proc R Soc B* 274: 399-406.
- Bradbury JV, Vehrencamp SL (1998) *Principles of Animal Communication*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 882 págs.
- Brenowitz EA, Rose GJ, Alder T (2001) The neuroethology of acoustic communication in Pacific Treefrogs. En: *Anuran communication*. Editor: M Ryan. Smithsonian Institution Press, Washington y Londres. págs. 183-204.
- Brown TJ, Handford P (1996) Acoustic signal amplitude patterns: a computer simulation investigation of the Acoustic Adaptation Hypothesis. *The Condor* 98: 608-623.
- Brown TJ, Handford P (2000) Sound design for vocalizations: Quality in the woods, consistency in the fields. *The Condor* 102: 81–92.
- Brumm B, Voss K, Köllmer I, Todt D (2004) Acoustic communication in noise: Regulation of call characteristics in a New World monkey. *J Exp Biol* 207: 443-448.
- Bucher TL, Ryan MJ, Bartholomew GA (1982) Oxygen consumption during resting, calling, and nest building in the frog *Physalaemus pustulosus*. *Physiol Zool* 55:10-22.
- Canavero A, Arim M, Naya DE, Camargo A, da Rosa I, Maneyro R (2008) Calling activity patterns in an anuran assemblage: the role of seasonal trends and weather determinants. *North-Western J Zool* 4: 29-41.
- Carrascal LM, Galvan I, Gordo O (2009) Partial least squares regression as an alternative to current regression methods used in ecology. *Oikos* 118: 681-690.

- Chek AA, Bogart JP, Lougheed SC (2003) Mating signal partitioning in multi-species assemblages: a null model test using frogs. *Ecol Lett* 6, 235–247.
- Couldridge VCK, van Staaden MJ (2004) Habitat-dependent transmission of male advertisement calls in bladder grasshoppers (Orthoptera; Pneumoridae). *J Exp Biol* 207: 2777-2786.
- Dabelsteen T, Larsen ON, Pedersen SB (1993) Habitat-induced degradation of sound signals: Quantifying the effects of communication sounds and bird location on blur ratio, excess attenuation and signal-to-noise ratio in blackbird song. *J Ac Soc Am* 93: 2206–2220.
- Daniel JC, Blumstein DT (1998) A test of the acoustic adaptation hypothesis in four species of marmots. *Anim Behav* 56: 1517–1528.
- Desutter-Grandcolas L, Robillard T (2004) Acoustic evolution in crickets: Need for phylogenetic study and a reappraisal of signal effectiveness. *An Acad Bras Ciênc* 76: 301-305.
- DeWitt TJ, Scheiner SM (2004) Phenotypic variation from single genotypes: A primer. En: *Phenotypic plasticity. Functional and conceptual approaches*. Editores: TJ DeWitt y SM Scheiner. Oxford University Press, New York. págs. 1-9.
- Doughty P, Reznick DN (2004) Patterns and analysis of adaptive phenotypic plasticity in animals. En: *Phenotypic plasticity. Functional and conceptual approaches*. Editores: TJ DeWitt y SM Scheiner. Oxford University Press, New York. págs. 126-150.
- Duellman WE, Pyles RA (1983) Acoustic resource partitioning in anuran communities. *Copeia* 1983: 639-649.
- Eliades SJ, Wang X (2008) Neural substrates of vocalization feedback monitoring in primate auditory cortex. *Nature* 453: 1102-1106.
- Endler JA (1992) Signals, signal conditions, and the direction of evolution. *Am Nat* 139: s125-s153.

- Endler JA, Basolo AL (1998) Sensory ecology, receiver biases and sexual selection. *Trends Ecol Evol* 13: 415-420.
- Ernande B, Dieckmann U (2004) The evolution of phenotypic plasticity in spatially structured environments: Implications of intraspecific competition, plasticity costs and environmental characteristics. *J Evol Biol* 17: 613-628.
- Feder ME, Burggren WW (1992) Environmental physiology of the amphibians. The University of Chicago Press, Chicago. 472 págs.
- Feng AS, Schul J (2007) Sound processing in real-world environments. En: *Hearing and sound communication in amphibians*. Editores: PM Narins, AS Feng, RR Fay, AN Popper. Springer Verlag, New York. págs. 323-350.
- Fitch WT (1999) Acoustic exaggeration of size in birds by tracheal elongation: Comparative and theoretical analyses. *J Zool (Lond.)* 248: 31-49.
- Forrest, T.G. (1994) From sender to receiver: Propagation and environmental effects on acoustic signals. *Am Zool* 34: 644-654.
- Foster SA (1999) The geography of behaviour: An evolutionary perspective. *Trends Ecol Evol* 14: 190-195.
- Fotheringham JR, Ratcliffe L (1995) Song degradation and estimation of acoustic distance in Black-capped Chickadees (*Parus atricapillus*). *Can J Zool* 73: 858-868.
- Fotheringham JR, Martin PR, Ratcliffe L (1997) Song transmission and auditory perception of distance in wood warblers (*Parulinae*). *Anim Behav* 53: 1271-1285.
- Gabriel W (2006) Selective advantage of irreversible and reversible phenotypic plasticity. *Arch Hydrobiol* 167: 1-20.
- Gabriel W, Luttbeg B, Sih A, Tollrian R (2005) Environmental tolerance, heterogeneity, and the evolution of reversible plastic responses. *Am Nat* 166: 339-353.

- Gerhardt CH (1991) Female mate choice in treefrogs: Static and dynamic acoustic criteria. *Anim Behav* 42: 615-635.
- Gerhardt HC (1994) The evolution of vocalization in frogs and toads. *Ann Rev Ecol Syst* 25: 293-324.
- Gerhardt HC y Huber F (2002) Acoustic communication in insects and anurans. Common problems and diverse solutions. The University of Chicago Press, Chicago. 531 págs.
- Gerhardt HC, Bee MA (2007) Recognition and localization of acoustic signals. En: *Hearing and sound communication in amphibians*. Editores: PM Narins, AS Feng, RR Fay, AN Popper. Springer Verlag, New York. págs. 113-146.
- Given MF (1988) Growth rate and the cost of calling activity in male carpenter frogs, *Rana virgatipes*. *Behav Ecol Sociobiol* 22: 153-160.
- Hansen P (1979) Vocal learning: its role in adapting sound structures to long-distance propagation and a hypothesis on its evolution. *Anim Behav* 27: 1270-1271.
- Harris CM (1966) Absorption of sound in air versus humidity and temperature. *J Ac Soc Am* 40: 148-159.
- Hödl W (1977) Call differences and calling site segregation in anuran species from Central Amazonian floating meadows. *Oecologia* 28: 351-363.
- Hödl W, Amézquita A (2001) Visual signaling in anuran amphibians. En: *Anuran communication*. Editor: M Ryan. Smithsonian Institution Press. Washington y Londres. págs. 183-204.
- Hunter ML, Krebs JR (1979) Geographical variation in the song of the Great Tit (*Parus major*) in relation to ecological factors. *J Anim Ecol* 48: 759-785.
- Iriondo JM, Albert MJ, Escudero A (2003) Structural equation modelling: an alternative for assessing causal relationships in threatened plant populations. *Biol Cons* 113: 367-377.

- Jones G, Teeling EC (2006) The evolution of echolocation in bats. *Trends Ecol Evol* 21: 149-156.
- Kelley DB (2004) Vocal communication in frogs. *Curr Op Neurobiol* 14: 751-757.
- Kime MN, Turner WR, Ryan MJ (2000) The transmission of advertisement calls in Central American frogs. *Behav Ecol* 11: 71-83.
- Kiss ACI, de Carvalho JE, Navas CA, Gomes FR (2009) Seasonal metabolic changes in a year-round reproductively active subtropical tree-frog (*Hypsiboas prasinus*). *Comp Biochem Physiol A* 152: 182-188.
- Kline RB (2005) Principles and practice of structural equation modeling. The Guilford Press, New York. 366 págs.
- Lardner B, bin Lakim M (2002) Tree-hole frogs exploit resonance effects. *Nature* 420: 475.
- Littlejohn MJ (2001) Patterns of differentiation in temporal properties of acoustic signals of anurans. En: *Anuran communication*. Editor: M Ryan. Smithsonian Institution Press, Washington y Londres. págs. 102-120.
- Lopez PT, Narins PM, Lewis ER, Moore SW (1988) Acoustically induced call modification in the white-lipped frog, *Leptodactylus albilabris*. *Anim Behav* 36: 1295-1308.
- Lucas JR, Howard RD (1995) On alternative reproductive tactics in anurans: dynamic games with density and frequency dependence. *Am Nat* 146: 365-397.
- Lucas JR, Howard RD, Palmer JG (1996) Callers and satellites: chorus behaviour in anurans as a stochastic dynamic game. *Anim Behav* 51: 501-518.
- Lüddecke H, Amézquita A, Bernal X, Guzmán F (2000) Partitioning of vocal activity in a Neotropical highland frog community. *Stud Neotrop Fauna Env* 35: 185-194.

- Malaeb ZA, Summers JK, Pugesek BH (2000) Using structural equation modeling to investigate relationships among ecological variables. *Env Ecol Stat* 7: 93-111.
- Martens MJM (1980) Foliage as a low pass filter: Experiments with model forests in an anechoic chamber. *J Ac Soc Am* 67: 66-72.
- Mathevon N, Aubin T (2001) Sound-based species-specific recognition in the Blackcap *Sylvia atricapilla* shows high tolerance to signal modifications. *Behaviour* 138: 511-524.
- Mathevon N, Aubin T, Dabelsteen T, Vieillard JME (2004) Are communication activities shaped by environmental constraints in reverberating and absorbing forest habitats? *An Acad Bras Ciênc* 76: 259-263.
- Mc Lister JD (2001) Physical factors affecting the cost and efficiency of sound production in the treefrog *Hyla versicolor*. *J Exp Biol* 204: 69-80.
- McNab BK (2002) *The physiological ecology of vertebrates: a view from energetics*. Cornell University Press, Ithaca. 576 págs.
- Mercado III E, Frazer LN (1999) Environmental constraints on sound transmission by humpback whales. *J Ac Soc Am* 106: 3004-3016.
- Michelsen A (1983) Biophysical basis of sound communication. En: *Bioacoustics: A comparative approach*. Editor: B Lewis. Academic Press, Londres. págs. 3-38.
- Moore IT, Wingfield JC, Brenowitz EA (2004) Plasticity of the avian song control system in response to localized environmental cues in an equatorial songbird. *J Neurosc* 24: 10182-10185.
- Moran NA (1992) The evolutionary maintenance of alternative phenotypes. *Am Nat* 139: 971.
- Morton ES (1975) Ecological sources of selection on avian sounds. *Am Nat* 109: 17-34.
- Morton ES (1986) Predictions from the ranging hypothesis for the evolution of long distance signals in birds. *Behaviour* 99: 65-86.

- Murray BA, Bradshaw SD, Edward DH (1991) Intermale spacing and calling site characteristics in a Southern Mississippi chorus of *Hyla cinerea*. *Copeia* 1991: 521-524.
- Narins PM, Zelick R (1988) The effects of noise on auditory processing and behavior in amphibians. En: *The evolution of the amphibian auditory system*. Editores: B Fritzsche, MJ Ryan, W Wilczynski, TE Hetherington, W Walkowiak. John Wiley, New York. págs. 511-536.
- Narins PM, Feng AS, Fay RR, Popper AN (2007) *Hearing and sound communication in amphibians*. Springer Verlag, New York. 362 págs.
- Nemeth E, Winkler H, Dabelsteen T (2006) Differential degradation of antbird songs in a Neotropical rainforest: Adaptation to perch height? *J Ac Soc Am* 110: 3263-3274.
- Nespolo RF, Arim M, Bozinovic F (2003) Body size as a latent variable in a structural equation model: Thermal acclimation and energetics of the leaf-eared mouse. *J Exp Biol* 206: 2145-2157.
- Newman RA (1994) Effects of changing density and food level on metamorphosis of a desert amphibian, *Scaphiopus couchii*. *Ecology* 75: 1085-1096.
- Nicholls JA, Goldzien A (2006) Habitat type and density influence vocal signal design in satin bowerbirds. *J Anim Ecol* 75: 549-558.
- Page RA, Ryan MJ (2005) Flexibility in assessment of prey cues: frog-eating bats and frog calls. *Proc R Soc B* 272: 841-847.
- Patricelli GL, Blickley JL (2006) Avian communication in urban noise: causes and consequences of vocal adjustment. *The Auk* 123: 639-649.
- Patten MA, Rotenberry JT, Zuk M (2004) Habitat selection, acoustic adaptation, and the evolution of reproductive isolation. *Evolution* 58: 2144-2155.
- Penna M, Solís R (1998) Frog call intensities and sound propagation in the South American temperate forest region. *Behav Ecol Sociobiol* 42: 371-381.

- Piersma T, Drent J (2003) Phenotypic flexibility and the evolution of organismal design. *Trends Ecol Evol* 18: 228-233.
- Pough FH, Magnusson WE, Ryan MJ, Wells KD, Taigen TL (1992) Behavioral energetics. En: *Environmental physiology of the amphibians*. Editores: ME Feder y WW Burggren. The University of Chicago Press, Chicago. págs. 395-346.
- Price TD (2006) Phenotypic plasticity, sexual selection and the evolution of colour patterns. *J Exp Biol* 209: 2368-2376.
- Redondo T (1994) Comunicación: teoría y evolución de las señales. En: *Introducción a la ciencia del comportamiento*. Editor: J Carranza. Universidad de Extremadura, Servicio de Publicaciones, Cáceres. págs. 255-297.
- Richards DG, Wiley RH (1980) Reverberations and amplitude fluctuations in the propagation of sound in a forest: Implications for animal communication. *Am Nat* 115: 381-399.
- Robinson BW, Dukas R (1999) The influence of phenotypic modifications on evolution: The Baldwin effect and modern perspectives. *Oikos* 85: 582-589.
- Rosenthal GG, Lobel P (2006) Communication. En: *Behaviour and Physiology of Fish* (vol. 24), Editores: K Sloman, S Balshine, R Wilson. Academic Press, New York. págs. 39-78.
- Ryan MJ, Bartholomew GA, Rand AS (1983) Energetics of reproduction in a Neotropical frog, *Physalaemus pustulosus*. *Ecology* 64: 1456-1462.
- Ryan MJ, Drewes RC (1990) Vocal morphology of the *Physalaemus pustulosus* species group (Leptodactylidae): morphological response to sexual selection for complex calls. *Biol J Linn Soc* 40: 37-52.
- Sarkar S (2004) From the reaktionsnorm to the evolution of adaptive plasticity. En: *Phenotypic plasticity. Functional and conceptual approaches*. Editores: TJ DeWitt y SM Scheiner. Oxford University Press, New York. págs. 10-30.

- Saunders J, Slotow R (2004) The evolution of song structure in southern African birds: an assessment of the acoustic adaptation hypothesis. *Ostrich* 75: 147-155.
- Schmitz OJ, Beckerman AP, O'Brien KM (1997) Behaviorally mediated trophic cascades: Effects of predation risk on food web interactions. *Ecology* 78: 1388-1399.
- Schwartz AL (1985) The behavior of fishes in their acoustic environment. *Env Biol Fishes* 13: 3-15.
- Schwartz JJ (2001) Call monitoring and interactive playback systems in the study of acoustic interactions among male anurans. En: *Anuran communication*. Editor: M Ryan. Smithsonian Institution Press. Washington y Londres. págs. 183-204.
- Seddon N (2005) Ecological adaptation and species recognition drives vocal evolution in Neotropical suboscine birds. *Evolution* 59:200-215.
- Shipley B (2002) *Cause and correlation in biology: A user's guide to path analysis, structural equations and causal inference*. Cambridge University Press, Cambridge. 317 págs.
- Shy E, Morton ES (1986) Adaptation of amplitude structure of songs to propagation in field habitat in song sparrows. *Ethology* 72: 177-184.
- Sih A, Bell A, Johnson JC (2004) Behavioral syndromes: an ecological and evolutionary overview. *Trends Ecol Evol* 19:372-378.
- Smith WJ (1965) Message, meaning, and context in ethology. *Am Nat* 99: 405-409.
- Sokal RR, Rohlf FJ (1994) *Biometry: the principles and practice of statistics in biological research*. WH Freeman, New York. 880 págs.
- Sueur J (2002) Cicada acoustic communication: potential sound partitioning in a multispecies community from Mexico (Hemiptera: Cicadomorpha: Cicadidae). *Biol J Linn Soc* 75: 379-394.

- Sueur J, Aubin T (2003) Is microhabitat segregation between two cicada species (*Tibicina haematodes* and *Cicada orni*) due to calling song propagation constraints? *Naturwissenschaften* 90: 322-326.
- Wells KD, Schwartz JJ (1982) The effect of vegetation on the propagation of calls in the neotropical frog *Centrolenella fleischmanni*. *Herpetologica* 38: 449-455.
- Wells KD, Taigen YL (1986) The effect of social interactions on calling energetics in the gray treefrog (*Hyla versicolor*). *Behav Ecol Sociobiol* 19: 9-18.
- Wells KD, Taigen YL (1989) Calling energetics of a neotropical treefrog, *Hyla microcephala*. *Behav Ecol Sociobiol* 25: 13-22.
- Wiley RH (1991) Associations of song properties with habitats for territorial oscine birds of eastern North America. *Am Nat* 138: 973-993.
- Wiley RH, Richards DG (1978) Physical constraints on acoustic communication in the atmosphere: implications for the evolution of animal vocalizations. *Behav Ecol Sociobiol* 3: 69-94.
- Witte K, Farris HE, Ryan MJ, Wilczynski W (2005) How cricket frog females deal with a noisy world: habitat-related differences in auditory tuning. *Behav Ecol* 16: 571-579.
- Wood WE, Yezerinac SM (2006) Song sparrow (*Melospiza melodia*) song varies with urban noise. *The Auk* 123: 650-659.
- Yao Y, Lin Y (2004) Acoustic adaptation hypothesis in macro-and micro environments: An analysis of frog calls. *J Ac Soc Am* 116: 2639.
- Zimmerman BL (1983) A comparison of structural features of calls of open a forest habitat frog species in the central Amazon. *Herpetologica* 39: 235-245.