

Norma de reacción y flexibilidad fenotípica en el canto de *Hypsiboas pulchellus*

Relación con la condición corporal y escalamiento de sus atributos



2015
PEDECIBA Biología
Mag. Lucia Ziegler

Norma de reacción y flexibilidad fenotípica en el canto de *Hypsiboas pulchellus*

Relación con la condición corporal y escalamiento de sus atributos

Tesis para la obtención de grado de Doctor en Ciencias Biológicas por el Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas. Uruguay, mayo de 2015

Estudiante:

Mag. Lucia Ziegler

Orientadores:

Dr. Francisco Bozinovic
(PUC, Chile)

Dr. Matías Arim
(UdelaR, Uruguay)

Tribunal:

Dr. Carlos A. Navas
(USP, Brasil)

Dr. Pablo A. Marquet
(PUC, Chile)

Dra. Ana C. Silva
(IIBCE/UdelaR, Uruguay)

Dr. Álvaro Soutullo
(UdelaR, Uruguay)

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer en primer lugar a mis orientadores, Matías y Pancho. Ambos estuvieron en todo momento para ayudarme a concretar el proyecto y la tesis. Ambos también me dieron libertad para trabajar en un proyecto muy “mío”, lo cual aprecio muchísimo. Aun así, quisiera agradecerle muy especialmente a Matías que, por ser el “local”, compartió en la cotidiana todas las instancias de esta tesis.

Estoy particularmente agradecida a los Dres. Pablo A. Marquet, Carlos A. Navas, Ana Silva y Álvaro Soutullo por haber aceptado conformar el tribunal de la tesis, y con ello, tomarse el trabajo de revisar y dar sus mejores comentarios para, valga la redundancia, mejorar esta tesis. Creo que realmente tuve un tribunal excepcional, y sus aportes fueron realmente valiosos, tanto para generar la versión final como para los artículos derivados de esta tesis.

El trabajo de campo no hubiese sido posible sin mis amigos/compañeros/colegas (todo en uno) que se prestaron para chofer, pinche, interlocutor, cocinero y lo que venga y se expusieron al riesgo de engriparse por estar, pasada la medianoche, aguantando una humedad de la masita y un frío interesante, que son las condiciones que parece le gustan a “la pulchella”. Mil gracias Lau, Maurolo, Ale y Seba.

También muchas gracias a los compañeros del Jolgory Lab, que siempre tienen alguna noticia que te muestra que hay cosas mucho más terribles en el mundo para amargarse, que el hecho de las ranas no canten, o los análisis se compliquen. Que no decaiga, muchachos (y muchachas)!

La gente del Laboratorio de Etología, Ecología y Evolución durante casi tres años fueron mis compañeros diarios de trabajo y me abrieron las puertas del lab donde hicieron que supiera sentirme muy a gusto. “El Costa” o “el jefe” me dio piedra libre para que siguiera trabajando en lo mío, con plena confianza en que de alguna manera estaba haciendo mi aporte al lab.

Los agradecimientos especiales son para varios. La familia, principalmente mis padres, que son los más cercanos, pero también a mis hermanas y sobrinos. Gracias por el soporte y el amor. Gracias a las amigas y amigos que siempre están,

y como justo somos todos biólogos, me han aguantado la cabeza literalmente en “todo terreno” (van en orden alfabético, nadie se ofenda): Carolina, Flavio, Laura, Luciana, Mauro, Patricia, Soledad y Verónica. Gracias Karim por el tiempo compartido, y por haber sido soporte, compañero y amor.

Gracias a todos los que no están nombrados acá, pero que hicieron su mejor aporte a mi persona o al proyecto. Es solo una cuestión de apoptosis neuronal. En mi corazón está muy claro lo valiosa que fue su presencia y su ayuda.

Por último, mi agradecimiento a las instituciones que apoyaron la realización de esta tesis. El 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 parte de las salidas de campo y materiales usados en esta tesis, además de otras actividades académicas. La Agencia Nacional de Investigación e Innovación me otorgó una beca de doctorado (BE_POS_2010_1_2502), sin la cual hubiese sido muy difícil esta fase de formación. Finalmente, a Cleveland Metropaks Zoo Grants y The Rufford Small Grants, que co-financiaron equipos y salidas de campo.

Muchas gracias a todos.

TABLA DE CONTENIDO

<u>RESUMEN GENERAL.....</u>	<u>11</u>
------------------------------------	------------------

<u>CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....</u>	<u>15</u>
---	------------------

VARIABILIDAD EN RASGOS INDIVIDUALES.....	17
COMPORTAMIENTO Y PLASTICIDAD REVERSIBLE.....	18
LAS SEÑALES ACÚSTICAS COMO MODELO	20
ESTA TESIS.....	21

<u>CAPÍTULO 2. UNA APROXIMACIÓN A LA COMUNICACIÓN ACÚSTICA A TRAVÉS DEL MARCO DE LA PLASTICIDAD FENOTÍPICA.....</u>	<u>23</u>
--	------------------

RESUMEN	25
INTRODUCCIÓN	27
METODOLOGÍA DE REVISIÓN DE LA LITERATURA	32
RESULTADOS GENERALES DE LA REVISIÓN DE LA LITERATURA	33
DISCUSIÓN	39
UNA HERRAMIENTA TEÓRICA Y CUANTITATIVA.....	39
FLEXIBILIDAD Y NORMA DE REACCIÓN	40
ORIENTACIONES FUTURAS: PREGUNTAS QUE PERMANECEN Y OPORTUNIDADES DE AVANCE.....	44
UN ENFOQUE A TRAVÉS DE LA NORMA DE REACCIÓN	44
FLEXIBILIDAD EN SU CONTEXTO	45
FLEXIBILIDAD A TRAVÉS DE LA FILOGENIA.....	47
CONSIDERACIONES FINALES.....	49

<u>CAPÍTULO 3. PLASTICIDAD DEL CANTO DE <i>Hypsiboas pulchellus</i> EN RESPUESTA A AMBIENTES CON DISTINTO NIVEL DE ATENUACIÓN, Y SU DEPENDENCIA DEL ESTADO FISIOLÓGICO</u>	<u>51</u>
---	------------------

RESUMEN	53
INTRODUCCIÓN	55
MATERIALES Y MÉTODOS	59
ORGANISMO MODELO, SITIO DE ESTUDIO Y MÉTODO DE REGISTRO DE CANTOS.....	59
PROTOCOLO EXPERIMENTAL.....	62

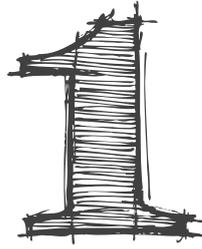
ABORDAJE DEL ANÁLISIS ESTADÍSTICO	65
RESULTADOS	68
EFECTO GENERAL DE LOS TRATAMIENTOS	68
MODELOS MIXTOS.....	70
DISCUSIÓN.....	76
<u>CAPÍTULO 4. ESCALAMIENTO INTRAESPECÍFICO EN EL CANTO DE ANUNCIO DE <i>Hypsiboas pulchellus</i>: INTERACCIÓN ENTRE LA TEMPERATURA, EL TAMAÑO CORPORAL Y EL ESTADO FISIOLÓGICO</u>	<u>81</u>
RESUMEN	83
INTRODUCCIÓN	85
MATERIALES Y MÉTODOS	89
RESULTADOS	92
DISCUSIÓN.....	97
<u>CAPÍTULO 5. DISCUSIÓN GENERAL.....</u>	<u>105</u>
CONSISTENCIA TEÓRICA EN LA PLASTICIDAD DEL COMPORTAMIENTO	108
PLASTICIDAD, AMBIENTE Y PERCEPCIÓN	109
LA PLASTICIDAD COMO ATRIBUTO CONTEXTO-DEPENDIENTE	110
ATRIBUTOS DEL CANTO Y METABOLISMO	111
COMENTARIOS FINALES	112
<u>REFERENCIAS</u>	<u>115</u>
<u>APÉNDICE I.....</u>	<u>142</u>
LISTA DE REFERENCIAS UTILIZADAS EN LA TABLA 4.2.....	144

RESUMEN GENERAL

La importancia de las adaptaciones fijas como los principales determinantes de la correspondencia entre los rasgos fenotípicos de un organismo y el ambiente está siendo cuestionada por la creciente atención al papel de las diferentes formas de plasticidad fenotípica como fuente de adaptaciones. Si bien el marco teórico de plasticidad fenotípica está bien consolidado, existe un renovado interés en el análisis de las potencialidades que ofrece como puente entre la variación en atributos a nivel individual y procesos a otras escalas de organización. En este sentido, la flexibilidad en rasgos comportamentales es interesante debido a que si bien muchas veces estos forman la primera línea de respuesta de los organismos a los cambios en su entorno, su variabilidad en este contexto ha sido poco estudiada. Las señales acústicas son clave en las interacciones entre co- y heteroespecíficos y su fenotipo es influido por el ambiente tanto biótico como abiótico en el cual las señales se emiten. Existe evidencia creciente acerca de la capacidad de muchas especies de modificar sus señales acústicas en respuesta a cambios en el ambiente. Esta tesis se enfoca en el estudio de la flexibilidad fenotípica en la comunicación acústica y sus determinantes endógenos (tamaño y condición corporal) y exógenos (estructura del ambiente y temperatura) en *Hypsiboas pulchellus*. Para esto se propone en primer lugar una evaluación del estado del conocimiento en cuanto a estudios de flexibilidad en rasgos acústicos y analizando el aporte potencial del enfoque de plasticidad fenotípica para su comprensión con énfasis el uso de la teoría y herramientas cuantitativas que ofrece el marco teórico (Capítulo 2). Se encontró que existen pocos estudios que abordan la variabilidad en las señales acústicas mediante las herramientas teóricas y cuantitativas unificadas, como lo ofrece el marco de la plasticidad fenotípica. Además, existe un sesgo taxonómico importante hacia aves e invertebrados, mientras que la gran mayoría de los estudios exploran el ruido antropogénico como principal efector de tal flexibilidad. Utilizando el canto de *H. pulchellus* como modelo de estudio, se caracteriza el fenómeno de la flexibilidad fenotípica a través del estudio de los atributos de su norma de reacción en un gradiente ambiental experimental

(Capítulo 3). Adicionalmente, se explora la asociación entre la norma de reacción de un individuo y su condición corporal. La relación entre el ambiente y las señales acústicas es compleja, ya que el primero no sólo pauta los costos y beneficios de la señal, sino que a su vez, puede influir en el estado fisiológico del emisor. En este sentido, el estado fisiológico y el ambiente (físico y social), afectan los procesos que generan variación en el fenotipo de las señales (Capítulo 3 y 4). Por último, se avanza en la relación entre la estructura del canto y el metabolismo, explorando el rol del tamaño corporal, la temperatura y la condición corporal de los individuos (Capítulo 4). A pesar de su importancia tanto en aspectos ecológicos como evolutivos, el patrón de flexibilidad fenotípica en la comunicación acústica, sus determinantes y consecuencias han sido notablemente poco considerados hasta el momento. En esta tesis se propone un abordaje abarcativo con la idea de responder a preguntas clave para avanzar en el conocimiento del efecto de la flexibilidad en el canto de anuncio de *H. pulchellus*.

CAPÍTULO



Introducción general

VARIABILIDAD EN RASGOS INDIVIDUALES

Existe un renovado interés en el estudio de la variación individual, tanto a nivel teórico como metodológico (Martin *et al.* 2011; Careau & Garland Jr 2012; Dall *et al.* 2012; Mathot *et al.* 2012; van de Pol 2012; Dingemanse & Dochtermann 2013). Este se debe en gran parte a su potencial para contribuir a formar puentes entre procesos a nivel individual (Badyaev 2005; Lloyd-Smith *et al.* 2005; Williams 2008) con los niveles poblacional (Cleasby, Nakagawa & Schielzeth 2015) y comunitario (Schmitz, Beckerman & O'Brien 1997; Schmitz, Krivan & Ovadia 2004; McGhee, Pintor & Bell 2013), generando una visión integrativa que no ignora la complejidad de los diferentes niveles de análisis (Bolnick *et al.* 2003; Vitousek, Zonana & Safran 2014). Buena parte de estos trabajos se centran en atributos comportamentales, donde la variación individual es afectada por, y a la vez afecta mecanismos biológicos próximos (bioquímicos, fisiológicos), procesos ecológicos (interacciones a diferentes niveles) y evolutivos (Sih *et al.* 2010; Dall *et al.* 2012). En este sentido, varios autores han señalado que la variabilidad genética ha concentrado la atención de los investigadores debido a su conexión clara con procesos selectivos, muchas veces sobrevaluando su “poder adaptativo” (Feder 2007; Williams 2008). Sin embargo, la variación individual es importante debido a que no todo el material genético se expresa y aquello que se expresa puede hacerlo de manera diferente de acuerdo al contexto ambiental; procesos como la plasticidad fenotípica o la asimilación genética son reconocidos como importantes en la generación de variabilidad a nivel poblacional y específico (Agrawal 2001; Price, Qvarnström & Irwin 2003; Pigliucci, Murren & Schlichting 2006; Lande 2009).

Dentro del marco teórico de la ecología del comportamiento, las señales son atributos clave que median las interacciones con co- y heteroespecíficos, ya que llevan información relevante sobre el emisor (Andersson 1994; Maynard Smith & Harper 2003; Bradbury & Vehrencamp 2011; Wilkins, Seddon & Safran 2013). Para ser informativa, una señal debe indicar de manera clara la intención o

el probable desempeño del individuo en un contexto ambiental y/o social dado (Grafen 1990; Schluter & Price 1993; Maynard Smith & Harper 2003). Debido a que el desempeño está íntimamente ligado al estado fisiológico del organismo (Ricklefs & Wikelski 2002; Irschick *et al.* 2007; Hill 2011), aquellas señales o rasgos comportamentales que estén más estrechamente ligados a la fisiología (por ejemplo, a través de su dependencia de la condición corporal) pueden dar información ecológicamente relevante acerca de una variedad de aspectos del fenotipo de un organismo tales como carga de parásitos (Hill, Doucet & Buchholz 2005; Lumpkin, Murphy & Tarvin 2014), respuesta inmune (Faivre *et al.* 2003), resistencia al daño oxidativo (Pérez-Rodríguez, Mougeot & Alonso-Alvarez 2010; Alonso-Alvarez & Galván 2011), mantenimiento de procesos a nivel celular (Hill 2011, 2014), calidad del esperma (Pitcher & Evans 2001; Locatello *et al.* 2006).

Por otra parte, se sabe que el ambiente (biótico y abiótico) en el cual las señales se emiten tiene un rol preponderante en la forma y coordinación del fenotipo de la señal (Maynard Smith & Harper 2003; Schmidt, Dall & Van Gils 2010; Bradbury & Vehrencamp 2011; Vitousek *et al.* 2014). La relación entre el contexto y el comportamiento de un organismo es compleja, ya el primero no sólo pauta algunos de los costos y beneficios de la señal, sino que a través de procesos de retroalimentación, puede influir en el estado fisiológico y motivacional del emisor (Safran *et al.* 2008; Laubach *et al.* 2013; Vitousek, Stewart & Safran 2013). En este sentido, el estado fisiológico y el ambiente (físico y social), afectan los procesos que generan variación en el fenotipo de distintos tipos de señales (Safran *et al.* 2008; Rubenstein & Hauber 2008; Dall *et al.* 2012; Vitousek *et al.* 2014).

Comportamiento y plasticidad reversible

La variación en el fenotipo de las señales puede ser atribuida en muchos casos al fenómeno de plasticidad fenotípica (ver Recuadro 2.1). En el marco de plasticidad fenotípica, se distingue como flexibilidad fenotípica a las variaciones reversibles, no cíclicas (Piersma & Drent 2003). A pesar de que los modelos

cuantitativos de plasticidad han sido muy utilizados y bien desarrollados (Via *et al.* 1995), prácticamente no se han presentado trabajos que elaboren modelos teóricos de plasticidad reversible (pero ver Piersma & Drent 2003 para un ejemplo). Esto es reflejo de que la atención principal ha estado en la plasticidad del desarrollo, de naturaleza irreversible (Gabriel *et al.* 2005; Gabriel 2006; Garland & Kelly 2006). Sin embargo, la teoría predice que en situaciones en las que las condiciones ambientales cambian en escalas de tiempo más cortas que la vida de los organismos, aquellos individuos que presenten cambios reversibles en aspectos tales como comportamiento, fisiología o morfología podrían encontrarse frente a una ventaja selectiva (Levitan 1989; Duckworth 2009; Willmer, Stone & Johnston 2009; Coppens *et al.* 2010). En este sentido, incorporar descripciones completas de los tipos de plasticidad no clásicos, en este caso la flexibilidad fenotípica, contribuirá a la formación de un marco teórico más inclusivo. La descripción de un fenómeno reversible implica no sólo describir el estado del atributo en función del ambiente, sino dar cuenta de su dinámica y cuales son sus determinantes. En este contexto, generar información acerca de la plasticidad en la comunicación que considere los escenarios naturales interno (fisiológico) y externo (condiciones ambientales y contexto social) de forma integrativa (Dangles *et al.* 2009) ampliará nuestra comprensión no sólo de las causas subyacentes a la plasticidad, sino sobre la importancia relativa de los factores genéticos y ambientales y la interacción entre ambos en los atributos de las señales (Fuller, Sarkar & Crews 2005; Nussey, Wilson & Brommer 2007).

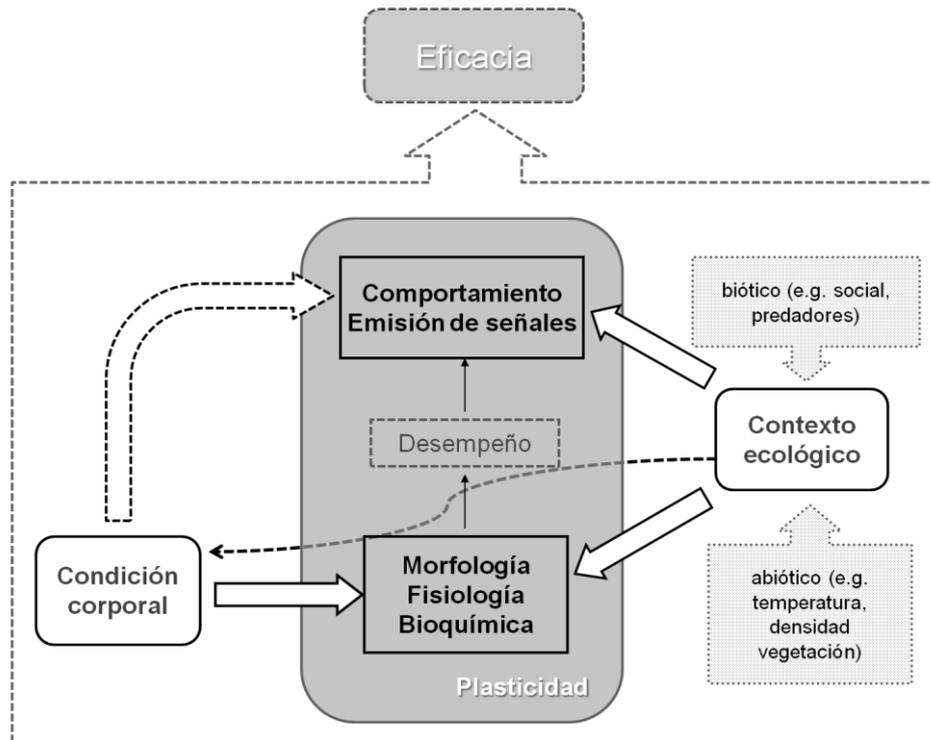


Figura 1.1 Esquema que relaciona el eje Atributos Individuales-Desempeño-Comportamiento, en interacción con el contexto ambiental y el estado energético, modificado del paradigma “Fisiología-Desempeño-Comportamiento-Eficacia” (Garland Jr & Losos 1994; Careau & Garland Jr 2012). Este diagrama resalta algunas de las vías de conexión entre el contexto ecológico como factor extrínseco, la condición corporal y aspectos de la fisiología/morfología/bioquímica como factores intrínsecos y el comportamiento. La plasticidad fenotípica actúa como un atributo que “envuelve” a éstos últimos. En total, el conjunto de interacciones aquí plasmadas tendrían un efecto en la eficacia darwiniana de los organismos.

Las señales acústicas como modelo

Existe una gran diversidad de señales acústicas producidas por los animales para comunicarse en diversos contextos. La particular importancia de la comunicación acústica en diferentes taxa se evidencia en la diversidad de estructuras y mecanismos que han evolucionado para la producción de sonido (Ladich 2000; Gerhardt & Huber 2002; Jones & Teeling 2006), así como el elevado costo metabólico que generalmente conllevan (Ryan 1988; Prestwich 1994; Oberweger & Goller 2001). De esta forma, las señales acústicas son buenos indicadores de la condición del emisor (Garratt & Brooks 2012; Casagrande *et al.* 2014; Thomson, Darveau & Bertram 2014). A pesar de su importancia tanto en

aspectos ecológicos como evolutivos, el patrón de flexibilidad fenotípica en la comunicación acústica, sus determinantes y consecuencias han sido notablemente poco considerados hasta el momento.

Esta tesis

Esta tesis se enfoca en el estudio de la flexibilidad fenotípica en la comunicación acústica y sus determinantes endógenos (tamaño y condición corporal) y exógenos (estructura del ambiente y temperatura). *Hypsiboas pulchellus*, el modelo de estudio de esta tesis es una especie para la que ya ha sido reportada flexibilidad en el canto (Ziegler, Arim & Narins 2011). Es por lo tanto un buen modelo a partir del cual generar preguntas adicionales sobre las causas y mecanismos de la plasticidad en este atributo.

La hipótesis es que los atributos del canto están restringidos en primer lugar por límites de capacidad, determinados por el tamaño corporal y la morfología. Dentro de estos límites cada organismo podría modular el canto en respuesta al ambiente maximizando la transmisión de la señal. Afrontar los costos de modulación depende del estado fisiológico del organismo.

Objetivo general

Avanzar en la comprensión del rol de la flexibilidad fenotípica como determinante de los atributos del canto de anuncio de *Hypsiboas pulchellus*, identificando el efecto de factores exógenos y endógenos sobre la misma.

Objetivos Específicos

O1: Evaluar el estado del arte en estudios de flexibilidad en rasgos acústicos y el potencial aporte del enfoque de plasticidad fenotípica para su comprensión.

O₂: Caracterizar el fenómeno de la flexibilidad fenotípica a través del estudio de los atributos de su norma de reacción en un gradiente ambiental experimental.

O₃: Analizar el escalamiento de los atributos del canto con el tamaño corporal y su relación con el estado de los individuos y la temperatura ambiente.

En los capítulos que siguen se propone un abordaje abarcativo con la idea de responder a preguntas clave para avanzar en el conocimiento del efecto de la flexibilidad en el canto. En el Capítulo 2 se realiza una revisión de los trabajos que reportan plasticidad/flexibilidad en señales acústicas, con énfasis en la necesidad de profundizar el uso de la teoría y herramientas cuantitativas que ofrece el marco teórico de la plasticidad fenotípica. En el Capítulo 3 se caracteriza el fenómeno de la flexibilidad fenotípica en el canto de *H. pulchellus* a través del estudio de los atributos de su norma de reacción en un gradiente ambiental experimental. Adicionalmente, se explora la asociación entre la norma de reacción de un individuo y su condición corporal. El Capítulo 4 intenta avanzar en la relación entre estructura del canto y metabolismo, explorando el rol del tamaño corporal, la temperatura y la condición corporal de los individuos. Por último, el Capítulo 5 presenta una síntesis de los resultados de la tesis, junto con el planteo de preguntas que aún permanecen abiertas y que representan vías que en el futuro sería importante transitar.

CAPÍTULO

2

Una aproximación a la comunicación acústica a través del marco de la plasticidad fenotípica

El contenido de este capítulo fue preparado y enviado a revisión a revistas arbitradas indexadas. Actualmente en preparación para ser re-enviado.

RESUMEN

La comunicación animal, un comportamiento clave en las interacciones de los organismos con su ambiente, está siendo afectada por cambios en los ecosistemas derivados de perturbaciones de origen antrópico. Existe evidencia creciente acerca de la capacidad de muchas especies de modificar sus señales acústicas en respuesta a cambios en el ambiente. Sin embargo, es poco lo que se ha estudiado respecto a la plasticidad fenotípica subyacente a estos ajustes. En este capítulo se realizó una revisión del estado del arte en el estudio de la plasticidad en las señales acústicas animales. Se enfatiza la necesidad de profundizar en este marco teórico a través de tres vías principales: a) Una aproximación a la plasticidad a través del estudio de la norma de reacción (NR). Comprender la NR de un rasgo y sus determinantes permite explorar los límites a las formas de ajustes fenotípicos, junto a su conexión con atributos individuales y del ambiente. b) *Identificar los escenarios que promueven la existencia de flexibilidad en la comunicación acústica.* Los resultados de la revisión evidencian la necesidad de ampliar nuestro conocimiento acerca de las claves ambientales que disparan respuestas flexibles en las señales acústicas, así como qué atributos individuales promueven o restringen la flexibilidad. c) *Expandir el estudio de la flexibilidad a través de la filogenia.* La capacidad de ajustar las señales acústicas al ambiente varía ampliamente entre taxa, con una sobrerrepresentación de estudios en aves y mamíferos. Sin embargo, si este desbalance representa la distribución de la flexibilidad comportamental en la filogenia (con mayor flexibilidad en taxa con centros de procesamiento neural más complejos) está siendo cuestionado por el creciente número de reportes en taxa más basales. La aproximación a través de marco teórico de la plasticidad fenotípica al estudio de la variabilidad en la comunicación animal, es aun escasa. Apelar a sus herramientas teóricas y metodológicas implicará una contribución a este creciente campo de estudio.

INTRODUCCIÓN

El comportamiento es un atributo central de los organismos, determinado por procesos ecológicos y evolutivos, profundamente entrelazado con las estrategias de historia de vida y que afecta procesos desde el desarrollo hasta la fisiología de los organismos (Sih *et al.* 2010; Sih, Ferrari & Harris 2011; Tuomainen & Candolin 2011; Sih 2013). En particular, el comportamiento muchas veces forma la primera línea de respuesta de los organismos a los cambios en su entorno (Tuomainen & Candolin 2011; Sih *et al.* 2012). En este sentido, existe creciente evidencia de que un aspecto central del comportamiento, la comunicación animal, está siendo afectada por cambios en los ecosistemas generados por disturbios de origen antrópico (Barber, Crooks & Fristrup 2010; Laiolo 2010; Sih *et al.* 2010, 2011; Tuomainen & Candolin 2011; van der Sluijs *et al.* 2011). Los efectos del cambio global en la comunicación animal no pueden ser evaluados a partir del tipo, magnitud, o escala temporal de la perturbación, sino por los cambios fenotípicos inducidos por esta (Barber *et al.* 2010; Laiolo 2010; Kight & Swaddle 2011).

Una de las propiedades interesantes de los rasgos comportamentales es su gran variabilidad. El comportamiento, aunque tiene una base genética, es reconocido como altamente lábil (West-Eberhard 2005; Duckworth 2009; Foster 2013), en particular frente a cambios en el ambiente (Rittschof & Robinson 2014). Recientemente se ha empezado a estudiar de manera sistemática esta variabilidad fenotípica originada de un mismo genotipo, y su papel en procesos adaptativos y en la evolución¹ (Dingemanse & Wolf 2010; Stamps & Groothuis 2010; Foster 2013; Snell-Rood 2013). La plasticidad fenotípica, definida como la capacidad de un organismo de modificar su fenotipo en respuesta a cambios en el ambiente (Via *et al.* 1995; Schlichting & Pigliucci 1998; Pigliucci 2001, 2005; West-Eberhard 2003; DeWitt & Scheiner 2004a; ver Recuadro 2.1), permite a los individuos ajustar su fenotipo al ambiente actual o potencial. Esto significa que un mismo genotipo es

¹ Como ejemplo, en 2013 la revista *Animal Behaviour* (Vol. 85, Nº 5) dedicó una sección especial al tema “Plasticidad del comportamiento y evolución”

Recuadro 2.1 ¿Qué es la plasticidad fenotípica?

Numerosos autores han definido el concepto de plasticidad fenotípica (Stearns 1989; Schlichting & Pigliucci 1998; Agrawal 2001; Schlichting & Smith 2002; West-Eberhard 2003; DeWitt & Scheiner 2004), y a pesar de detalles y pequeñas diferencias, en sentido general todas son definiciones muy similares. Para el propósito de esta tesis, se define plasticidad fenotípica como la expresión de fenotipos ambiente-dependiente, o la expresión sensible al ambiente de fenotipos alternativos a partir de un genotipo dado (Dewitt & Scheiner 2004).

La plasticidad puede ser subcategorizada de acuerdo a si los cambios fenotípicos son reversibles y ocurren dentro de un mismo individuo (Piersma & Lindström 1997; Piersma & Drent 2003; Piersma & van Gils 2011), así como si los cambios ocurren de manera predecible en forma estacional o cíclica. La siguiente tabla, tomada de Piersma & Drent (2003) resume esta categorización:

Categoría de plasticidad	Reversibilidad del cambio fenotípico	Variabilidad intraindividual	Variabilidad presenta ciclicidad?
Plasticidad del desarrollo	No	No	No
Polifenismo ¹	No	No	Si
Flexibilidad fenotípica	Si	Si	No
Fases de ciclo de vida ²	Si	Si	Si

¹ Subcategoría de plasticidad del desarrollo

² Subcategoría de flexibilidad fenotípica

Un punto importante es que la plasticidad fenotípica representa variabilidad medible (e.g. a través de un ANOVA; Pigliucci 2001). Una medida estadística de esta variación es la varianza, que cuantifica la desviación de la media de los valores observados. La varianza en un rasgo fenotípico dado se puede particionar de la siguiente forma:

$$V_P = V_G + V_E + V_{G \times E} + V_{\text{error}}$$

Donde:

V_P = Varianza fenotípica total de un rasgo

V_G = Varianza genética (proporción de la variación fenotípica atribuible a los genes)

V_E = Varianza ambiental (proporción de la variación causada por el ambiente)

$V_{G \times E}$ = Interacción genotipo x ambiente (variación genética para la plasticidad fenotípica)

V_{error} = Varianza no explicada, que incluye entre otros, ruido atribuible a factores del desarrollo, o error de medición.

¿Cuál es el nivel de análisis?

El estudio de la variación en el fenotipo puede hacerse a distintos niveles: dentro de un mismo genotipo (intraindividual), entre genotipos de una misma población (interindividual), entre poblaciones dentro de una especie y entre especies (Pigliucci 2001; Forsman 2014). De esta forma, la variación en el nivel de plasticidad se puede comparar en los últimos 3 niveles (ver Figura 2.1 de esta tesis).

capaz de producir fenotipos alternativos, mejorando la correspondencia con las características del ambiente experimentado y, posiblemente, manteniendo o mejorando su adecuación biológica (Schlichting 1986; Via *et al.* 1995; Molina-Montenegro & Naya 2012). El estudio de la plasticidad fenotípica ha estado enfocado en lo que se conoce como plasticidad del desarrollo, que hace referencia a canalizaciones irreversibles hacia fenotipos alternativos originadas durante el desarrollo, provocadas por señales ambientales (Piersma & Drent 2003). Sin embargo, muchos rasgos ya sea comportamentales, fisiológicos o morfológicos, exhiben expresión reversible durante la vida del organismo, incluso en escalas de tiempo cortas (Piersma & Lindström 1997; Piersma 1998; Starck 1999; Naya, Karasov & Bozinovic 2007). Siguiendo la nomenclatura propuesta por Piersma y Drent (2003), a esta forma de plasticidad se la denomina flexibilidad fenotípica. Si bien el marco teórico referente a plasticidad fenotípica se desarrolló de forma casi restringida a la morfología, la fisiología, y rasgos de historia de vida (Nussey *et al.* 2007; Ghalambor, Angeloni & Carroll 2010), los ecólogos del comportamiento han comenzado a incluirlo en su "caja de herramientas teóricas" (Sih 2004; Dingemanse *et al.* 2010; Ghalambor *et al.* 2010).

Un rasgo comportamental que ha cobrado particular relevancia en este escenario son las señales utilizadas en la comunicación acústica. Las señales acústicas son fundamentales en la comunicación animal en diversos taxa, facilitando las interacciones sociales (Laiolo & Tella 2008; Quick & Janik 2012), mediando procesos de selección sexual (Reinhold 2011; van der Sluijs *et al.* 2011), y determinando la vulnerabilidad o riesgo de depredación (Mougeot & Bretagnolle 2000; Bernal *et al.* 2007). Dado su papel central en las estrategias de historia de vida, las señales acústicas están sujetas a una fuerte presión de selección sexual y natural (Laiolo 2010). Por otra parte, existe creciente evidencia de que la comunicación animal está siendo afectada negativamente por los cambios en los ecosistemas naturales generados por perturbaciones de origen antrópico, a través de varias vías (Rabin & Greene 2002; Barber *et al.* 2010; Laiolo 2010; Tuomainen & Candolin 2011). Entre estas vías se destaca el ruido antropogénico que afecta distintos aspectos de la biología de diversos taxa (Barber *et al.* 2010; Kight &

Swaddle 2011). Esto ha motivado su reciente consideración en la biología de la conservación (Barber *et al.* 2010; Laiolo 2010; Sih *et al.* 2010). Otra vía por la cual se podría estar afectando la comunicación animal es a través de las alteraciones generadas en la estructura física de los hábitats naturales. Es sabido que la estructura y densidad de la vegetación afectan la propagación del sonido (Morton 1975; Forrest 1994). Consecuentemente, alteraciones en el paisaje pueden inducir cambios en la estructura de la señales y en la eficiencia de su propagación (Tuomainen & Candolin 2011; Ziegler, Arim & Narins 2011). Por último, cambios en la temperatura ambiente y los recursos disponibles afectarían la tasa metabólica de los organismos y, en consecuencia, su asignación energética a diferentes actividades (Dillon, Wang & Huey 2010). El comportamiento es muchas veces la primera línea de reacción a este tipo de cambios (Huey & Tewksbury 2009). Recientemente se ha comenzado a explorar, con base en la Teoría Metabólica de la Ecología (Brown *et al.* 2004; Allen & Gillooly 2007), el efecto, mediado por metabolismo, de la temperatura en la señales acústicas de diversos taxa (Gillooly & Ophir 2010; Ophir, Schrader & Gillooly 2010; Ziegler *et al.* en revisión).

A lo largo de su vida, o en períodos de tiempo aun más cortos, los organismos experimentan entornos acústicos significativamente diferentes, tanto en términos abióticos como bióticos (e.g. número de co-específicos, presencia de otras especies que utilizan el mismo canal de comunicación, o la estructura del hábitat). En este escenario, ajustarse a las nuevas características del ambiente a través de rasgos fenotípicamente flexibles en lugar de cambios genéticos microevolutivos parecería ser un mecanismo plausible de ajustar el fenotipo al ambiente. Por lo tanto, sería de esperar que los individuos muestren flexibilidad en sus señales acústicas, incluso para aquellas señales que han sido consideradas como altamente estereotipadas (White & Mooney 1999). Con el foco en la comunicación animal a través de señales acústicas, este capítulo resalta la importancia de extender el uso de la teoría relativa a plasticidad fenotípica en el campo de la ecología sensorial. Dado el creciente interés en el estudio de la comunicación acústica animal, y su capacidad de ajuste a cambios ambientales,

una síntesis e identificación de áreas clave a través de las cuales avanzar se vuelven de especial importancia.

MÉTODOLOGÍA DE REVISIÓN DE LA LITERATURA

Con el propósito de profundizar en el estado del arte, se realizó una revisión sistemática de la literatura sobre estudios empíricos de plasticidad fenotípica en el repertorio acústico de los animales. La búsqueda se realizó a través de los buscadores académicos *Thompson ISI Web of Science (core collection)*, *Scopus* y *Google Scholar*. Se comenzó con una búsqueda amplia que incluía los términos "*plasticity*", "*flexibility*", "*reaction norm*", "*behavior*" y "*acoustic*" en cualquier parte del texto del artículo. A partir de esa base de datos bruta, se procedió a refinar la búsqueda, de forma de centrarse en aquellos trabajos que abordaran la plasticidad / flexibilidad en la comunicación acústica de los animales y sus señales. Esto se realizó revisando el resumen y palabras clave del total de artículos que componían el resultado de la búsqueda bruta.

Se retuvieron aquellos resultados de la búsqueda que fueran trabajos empíricos sobre plasticidad / flexibilidad en la comunicación a través de señales acústicas. También se incluyeron en la revisión algunos trabajos que, aunque sin basarse explícitamente en el marco teórico de plasticidad, claramente utilizan un enfoque empírico analizando la norma reacción en su sistema de estudio. Posteriormente, éstos fueron clasificados según si tenían un enfoque intra- (I_w) o interindividual (I_b), de comparación entre poblaciones (P), y/o entre especies (Sp). Por último, otros criterios de clasificación fueron el uso o no de una aproximación empírica a través de la norma de reacción (NR), y el uso o referencia explícita al marco teórico de plasticidad fenotípica.

RESULTADOS GENERALES DE LA REVISIÓN DE LA LITERATURA

La búsqueda más amplia fue la que contenía las palabras² *plasticity*, *flexibility*, *behavior* y *acoustic*. Por otra parte, los resultados más restringidos fueron los obtenidos a partir de la búsqueda de estas mismas palabras más la frase exacta *reaction norm*. A partir de la revisión refinada de los resultados, se encontraron 271 trabajos que abordaban de manera específica el tema de plasticidad fenotípica en rasgos comportamentales. De este subconjunto de artículos, sólo 41 abordaban empíricamente el estudio de la plasticidad / flexibilidad en la comunicación a través de señales acústicas. En la Tabla 2.1 se resume los artículos que resultaron de la búsqueda refinada. Es destacable la cantidad de trabajos recientes: 35 de los artículos (85%) en la Tabla 2.1 tienen una edad <10 años y 15 (37%) fueron publicados en los últimos 5 años. Esto parecería indicar un crecimiento en el interés en este tema, donde han comenzado a acumularse pruebas empíricas acerca de la naturaleza flexible de las señales acústicas.

En cuanto a la referencia al marco teórico de plasticidad fenotípica y uso de la norma de reacción como herramienta cuantitativa se obtuvo como resultado un número importante de estudios acerca de la variabilidad en señales acústicas inducida por cambios en el ambiente, que no hacen referencia -o lo hacen sólo de forma secundaria- al marco teórico de la plasticidad fenotípica (Tabla 2.1). La Tabla 2.1 resume los artículos que abordan los ajustes de la señal acústica del marco de la plasticidad fenotípica, y que utilizan explícitamente un enfoque de norma de reacción. Algunos de estos estudios utilizaron expresiones como "plasticidad conductual" o "flexibilidad del comportamiento", pero sin hacer referencia explícita al marco de plasticidad fenotípica. Cabe destacar que la mayoría de los trabajos (29 en 41, o 73%) resumidos en la Tabla 2.1 no hacen

² La búsqueda no sólo arroja las palabras exactas, sino también variantes o derivaciones de las mismas. Por ejemplo, para el caso de *behavior*, palabras tales como *behaviour*, o *behavio(u)ral* también entraron en los resultados.

mención al marco teórico de plasticidad fenotípica. Además, solo un 27% (11 artículos) utilizaron una aproximación cuantitativa al estudio de la plasticidad a través de la norma de reacción, de los cuales sólo 6 artículos trabajaron explícitamente dentro del marco de la plasticidad fenotípica.

En otros trabajos, el término y el concepto de plasticidad se han utilizado libremente en una amplia gama de estudios de caso en ausencia de un claro apoyo en antecedentes teóricos. Por ejemplo, son varios los estudios que concluyen la existencia de plasticidad fenotípica basándose en comparaciones entre poblaciones (e.g. Slabbekoorn & den Boer-Visser 2006; Kirschel *et al.* 2009). En este sentido, estudiar fenómenos por fuera de un marco teórico que ya los comprende, puede llevar a la sub-utilización de los avances, tanto metodológicos como conceptuales, además de favorecer una “inflación” de términos (lo que se denomina *jargon* en la literatura en inglés) que llevan más a la confusión que a un crecimiento en el entendimiento del fenómeno (Japyassú & Malange 2014; Forsman 2014). Por ejemplo, recientemente se comenzó a utilizar el término “*activational plasticity*” (Snell-Rood 2013) para referirse a la “...*activación diferencial en diferentes ambientes de la red subyacente, de modo tal que el individuo expresa varios fenotipos a lo largo de su vida.*”, un caso específico de plasticidad fenotípica reversible denominado flexibilidad fenotípica (Piersma 1998; Piersma & Drent 2003). El término “*contextual plasticity*” (Biro, Beckmann & Stamps 2009; Stamps & Groothuis 2010) es otro ejemplo de un término redundante con el de flexibilidad fenotípica. Debido al creciente interés que ha despertado la plasticidad del comportamiento (Réale *et al.* 2007; Stamps & Groothuis 2009; Dingemanse *et al.* 2010, 2011, 2012; Sih *et al.* 2010; Martin *et al.* 2011; van de Pol 2012), es necesario partir de una terminología que sea clara y unificada respecto al fenómeno de estudio (Japyassú & Malange 2014; Forsman 2014). En este sentido, la necesidad de evitar el aislamiento y atomización de áreas de estudio con un enfoque reduccionista mediante la inclusión de una diversidad de estudios en un marco teórico amplio y sólido, ya se ha destacado anteriormente (Haila & Järvinen 1982; Réale *et al.* 2007).

Otro resultado que emerge de la revisión es el marcado sesgo tanto en el tipo de claves ambientales que han sido exploradas hasta el momento como a la distribución de estudios empíricos entre taxa. Respecto a lo primero, el 63% de los trabajos revisados exploraron la flexibilidad en respuesta a niveles de ruido, mientras que solo 17 y 12% se enfocaron en claves ambientales como el contexto social o densidad de co-específicos, y la estructura del hábitat, respectivamente. Al relativo bajo número de claves ambientales exploradas, se agrega el hecho de que en algunos taxa algunas de estas claves tiene una dominancia clara (e.g. aves y ruido antropogénico; ver Tabla 2.1). Por último, se detectó también un fuerte sesgo en cuanto al número de estudios en aves. Casi la mitad de los estudios empíricos analizados correspondieron a este taxón, mientras que el resto de los trabajos se repartió con relativa equitatividad entre otros grupos altamente vocales: anfibios, invertebrados y mamíferos. Los peces sólo aparecieron representados con un trabajo, a pesar de que ser un grupo muy diverso, con un importante y creciente número de especies para las que se ha reportado comunicación por señales acústicas (Lobel 2002; Amorim 2006; Webb, Fay & Popper 2008; van der Sluijs *et al.* 2011).

Tabla 2.1 Resultado de la revisión de la literatura, filtrado por trabajos empíricos sobre plasticidad / flexibilidad en la comunicación a través de señales acústicas. I_w, I_b, P y Sp refieren a un enfoque intra- e interindividual, comparación entre poblaciones, y entre especies, respectivamente. *Aprox. empírica*, resalta el uso de la norma de reacción (NR). *Marco teórico* hace referencia al uso o referencia explícita al marco teórico de plasticidad fenotípica en el artículo.

Taxon	Escala	Causa	Aprox. empírica	Marco teórico PF	Referencia
Anfibios	I _w	Ruido antropogénico	PF	No	(Cunnington & Fahrig 2010)
	I _w	Ruido ambiente	PF	No	(Hanna <i>et al.</i> 2014)
	I _w	Estructura del hábitat	NR	No	(Lardner & bin Lakim 2002)
	I _w	Ruido antropogénico	PF; NR	No	(Sun & Narins 2005)
	I _w , I _b	Estructura del hábitat; condiciones ambientales	PF; NR	Si	(Ziegler <i>et al.</i> 2011)
Aves	I _w , I _b	Ruido antropogénico	PF	No	(Bermúdez-Cuamatzin <i>et al.</i> 2011)
	I _b	Ruido antropogénico	--	No	(Francis, Ortega & Cruz 2011)
	I _w , I _b	Ruido antropogénico	PF	Si	(Gross, Pasinelli & Kunc 2010)
	I _w , I _b	Ruido antropogénico	PF	No	(Halfwerk & Slabbekoorn 2009)
	I _w , I _b	Ruido antropogénico	PF	No	(Hanna <i>et al.</i> 2011)
	P, Sp	Ruido antropogénico	PF	No	(Hu & Cardoso 2010)
	P	Ruido ambiente; condiciones ambientales	--	Si	(Kirschel <i>et al.</i> 2009)
	P	Ruido antropogénico	--	No	(Lowry, Lill & Wong 2012)
I _w , I _b , P, Sp	Condiciones ambientales	--	No	(Medina & Francis 2012)	

Aves (cont.)	l _b , P, Sp	Ruido antropogénico	PF	No	(Mendes, Colino-Rabanal & Peris 2011)
	P	Ruido antropogénico	PF	No	(Mockford & Marshall 2009)
	l _w , l _b , P	Ruido antropogénico	PF	Si	(Montague, Danek-Gontard & Kunc 2013)
	l _w , l _b	Ruido ambiente	PF	No	(Potvin & Mulder 2013)
	l _w , l _b	Ruido ambiente; estructura del hábitat; densidad co-específicos	PF	No	(Ripmeester <i>et al.</i> 2010)
	l _w , l _b	Selección sexual	PF; NR	No	(Ríos-Chelén, Garcia & Riebel 2005)
	l _w , l _b	Ruido ambiente	PF; NR	No	(Schuster <i>et al.</i> 2012)
	P	Ruido antropogénico	PF	No	(Slabbekoorn & den Boer-Visser 2006)
	l _w	Disrupción sonora	NR	No	(Tumer & Brainard 2007)
	l _w , l _b , P	Ruido antropogénico	PF	No	(Verzijden <i>et al.</i> 2010)
P	Ruido antropogénico	PF	No	(Wood & Yezerinac 2006)	
Invertebrados	l _w , l _b	Contexto social	PF; NR	Si	(Bertram <i>et al.</i> 2013)
	l _w , l _b	Contexto social	PF	Si	(Callander <i>et al.</i> 2013)
	l _w , l _b	Riesgo de predación	PF; NR	Si	(Cordes, Schmoll & Reinhold 2013)
	P	Calidad del recurso durante el desarrollo	PF; NR	Si	(Danielson-François, Kelly & Greenfield 2005)
	l _w , l _b	Temperatura; ambiente de desarrollo	PF; NR	Si	(Olvido & Mousseau 1995)
	l _w , l _b	Temperatura	NR	No	(Olvido, Fernandes & Mousseau 2010)
	l _w , l _b , P	Ambiente de desarrollo: calidad del recurso y temperatura	PF; NR	Si	(Zhou <i>et al.</i> 2008)
Mamíferos	l _w	Ruido ambiente	--	No	(Egnor, Wickelgren & Hauser 2007)

	I_b	Ruido antropogénico	--	No	(Foote, Osborne & Hoelzel 2004)
	I_w, I_b	Contexto social	PF	No	(Koda 2004)
	P	Ruido antropogénico	--	No	(May-Collado & Wartzok 2008)
	I_w, I_b	Ruido antropogénico	NR	No	(Miller <i>et al.</i> 2000)
	I_w, I_b	Estructura del hábitat; ruido ambiente	PF; NR	Si	(Obrist 1995)
	I_w, I_b	Contexto social	--	No	(Sugiura 2007)
	$\zeta?^{\dagger}$	Estructura del hábitat	--	No	(Wund 2006)
Peces	I_w, I_b	Condiciones ambientales; contexto social	--	No	(Amorim <i>et al.</i> 2011)

[†] El autor no hace explícita la escala de análisis (individual, poblacional) de este trabajo, por lo que se decidió no asignarle un valor

DISCUSIÓN

Una herramienta teórica y cuantitativa

La relación entre el fenotipo vocal y los diferentes contextos ambientales se ha interpretado tradicionalmente como un producto “fijo” de procesos evolutivos (Griebel & Oller 2008; Whitman & Agrawal 2009). Además, como se mencionó anteriormente, se sabe que la variación en las señales acústicas es en sí misma sustrato para que opere la selección natural (Russo *et al.* 2009; Llusia *et al.* 2013a; Wilkins *et al.* 2013; Odendaal, Jacobs & Bishop 2014). Parte de la variación fenotípica entre organismos, particularmente las diferencias entre poblaciones aisladas o individuos no relacionados, puede ser fija y reflejar diferencias en la composición genética (Mayr 1963; Lewontin 1970). En esta línea, el estudio de la variación en las señales acústicas se ha centrado en la variación entre poblaciones (Sih 2004; Mathot *et al.* 2012). Otra parte de la variación se desarrolla en interacción con el ambiente en el que un organismo se encuentra (Piersma & Drent 2003; Piersma & van Gils 2011). Este tipo de variación es la que generalmente se observa entre individuos o a nivel intraindividual, pero que, sin embargo, ha sido tradicionalmente considerada como ruido en los datos; es decir, la variabilidad ha sido vista como algo que “oscurece” las señales y su significado (Ives, Midford & Garland Jr 2007; Careau & Garland Jr 2012; Head, Hardin & Adolph 2012). Por lo tanto, en este escenario toda variación que opere a nivel del individuo (la unidad básica del cambio evolutivo) es ignorada casi en su totalidad (Careau & Garland Jr 2012).

Las señales acústicas pueden incluirse fácilmente en el conjunto de rasgos fenotípicos que pueden mostrar una respuesta plástica frente a diferentes claves ambientales. Un buen ejemplo del impacto potencial del estudio de la plasticidad en la comunicación acústica animal podría estar representado por estudios recientes sobre los efectos del ruido antropogénico en poblaciones animales en estado salvaje (Barber *et al.* 2010; Laiolo 2010; Kight & Swaddle 2011). Estos y otros estudios han documentado una amplia gama de respuestas que abarcan desde un

ajuste en la estructura de la señal que compensa, al menos en cierto grado, los efectos de los niveles elevados de ruido (por ejemplo, Gross, Pasinelli & Kunc 2010; Lowry, Lill & Wong 2012) hasta la ausencia absoluta de respuesta (Hu & Cardoso 2010). Sin embargo, es importante destacar que la mayoría de estos estudios se han limitado a probar la naturaleza plástica de tales respuestas. Incluso en aquellos estudios en los que la plasticidad se ha propuesto como el mecanismo principal, la extensión, límites, costos y reversibilidad de la misma, son casi completamente desconocidos (Cunnington & Fahrig 2010; Gross *et al.* 2010; Laiolo 2010). Otro problema que aún persiste es un sesgo marcado hacia determinados taxa (principalmente aves, y en forma secundaria invertebrados), y dentro de ellos a unas pocas especies (véase Tabla 2.1). De modo que un gran número de taxa en los que la comunicación a través de señales acústicas tiene un rol importante (por ejemplo, los anfibios y la atracción de pareja) así como la diversidad de respuestas dentro de los mismos permanecen poco estudiados.

El estudio de la señales acústicas desde la perspectiva de la plasticidad proporciona un marco general, común a otros patrones ecológicos y evolutivos, como la morfología, la fisiología y el comportamiento (ver Schlichting & Pigliucci 1998; Pigliucci 2001; DeWitt & Scheiner 2004a). Asimismo, aportaría métodos cuantitativos, que permiten el análisis comparativo mediante la estandarización y la cuantificación de diferentes rasgos, dentro de los individuos, las poblaciones o las especies (Sih 2004; Dingemanse *et al.* 2010; Ghalambor *et al.* 2010).

Flexibilidad y Norma de Reacción

Cuando existe plasticidad en cualquier rasgo dado, existe también una norma de reacción que describe dicha plasticidad en respuesta a un gradiente de condiciones ambientales (Via *et al.* 1995; Schlichting & Pigliucci 1998). La norma de reacción representa el cambio en el fenotipo en función de un rango de valores del ambiente que experimenta el organismo (ver Recuadro 2.2). En este sentido, una norma de reacción comportamental muestra cómo el comportamiento de un individuo cambia en diferentes contextos ambientales, incluyéndose factores

tanto bióticos como abióticos (Schlichting & Pigliucci 1998; Dingemanse *et al.* 2010; ver Figura 2.1). Un aspecto importante a destacar de este enfoque es que permite la evaluación de los potenciales y limitaciones en los despliegues comportamentales y el repertorio de los organismos. Esto proporciona un marco cuantitativo claro para realizar comparaciones entre individuos de la misma o diferentes especies (Schlichting & Pigliucci 1998). Además, representa una base común para el análisis de diferentes rasgos comportamentales (Dingemanse *et al.* 2010; Dingemanse & Wolf 2010; Husby *et al.* 2010) o en conjunto con rasgos fisiológicos o de historia de vida (Mollet *et al.* 2010). Por ejemplo, el grado de plasticidad en las señales dependiendo del contexto social (e.g. densidad de co-específicos) o el estado motivacional (e.g. alarma, socialización o reproducción) se puede resumir y contrastar utilizando sus normas de reacción. Esta aproximación se ha utilizado para contrastar la flexibilidad de un individuo bajo diferentes condiciones ambientales (por ejemplo temperatura: Olvido & Mousseau 1995; Zhou *et al.* 2008; Olvido, Fernandes & Mousseau 2010; o nivel de radiación incidente en plantines: Valladares, Sanchez-Gomez & Zavala 2006) o de acuerdo a su estado fisiológico (por ejemplo, estado nutricional; Danielson-François *et al.* 2005; Zhou *et al.* 2008).

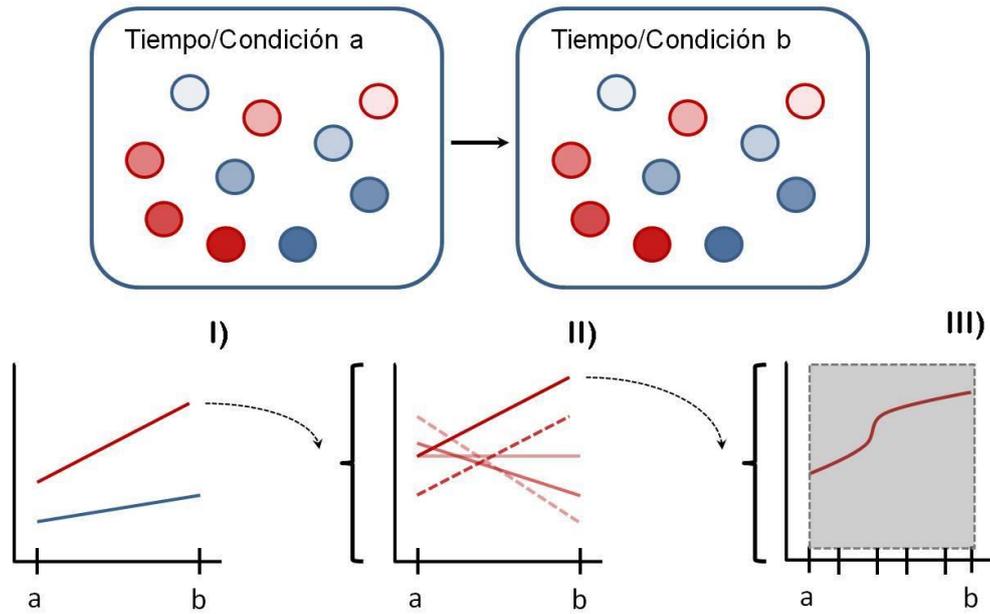
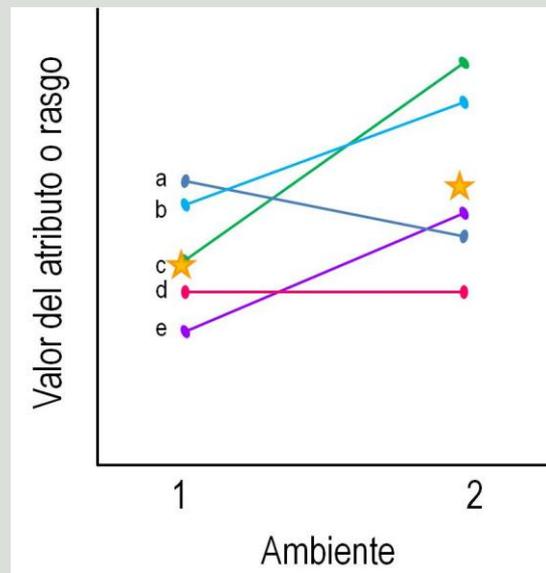


Figura 2.1 Diferentes niveles de plasticidad fenotípica. Los recuadros con los círculos de color representan individuos de diferentes poblaciones (tonalidades de rojo/azul) en dos ambientes/momentos diferentes. Los estudios de plasticidad fenotípica incluyen: (I) comparación de las normas de reacción calculadas como el promedio del atributo analizado, entre poblaciones (las líneas roja y azul representan la norma de reacción promedio de cada población); (II) comparación de la norma de reacción entre individuos de una misma población; (III) plasticidad intra-individual, que describe el cambio a nivel del individuo, al estar expuesto a ambientes alternativos. Cualquiera de las asociaciones aquí esquematizadas podrían ser más complejas (no lineales), e incluir un conjunto de atributos que covarían en sus respuestas (ver Stamps & Groothuis 2009).

Recuadro 2.2 La Norma de Reacción como índice de plasticidad

La norma de reacción (NR) es posiblemente la forma más inmediata de explorar la plasticidad fenotípica (Schlichting & Pigliucci 1998; Pigliucci 2001). En el caso más sencillo, asumiendo un cambio fenotípico lineal (típicamente, esto se obtiene del análisis de sólo dos ambientes), la NR es representada mediante la línea de regresión en un gráfico de expresión de un determinado atributo vs. el ambiente. Cuando se trata de comparar el grado de plasticidad, la magnitud de dicha plasticidad puede ser evaluada a través de la pendiente de la NR para dicho rasgo (Schlichting & Pigliucci 1998; Pigliucci 2001; Whitman & Agrawal 2009).



La figura muestra un diagrama con las normas de reacción hipotéticas de 5 individuos (genotipos) en una población. Cada genotipo tiene para rasgo analizado un valor promedio distinto en el Ambiente 1 (correspondiente a V_G , ver Recuadro 1.1). Cuando estos mismos individuos son expuestos al Ambiente 2, la expresión del atributo (fenotipo) se ve alterada. Si tomamos la media poblacional (señalada por las estrellas), diríamos que el valor del atributo es mayor en el Ambiente 2 que en el 1 (correspondiente a V_E , ver Recuadro 1.1). Sin embargo, al analizar de manera individual vemos que cada genotipo exhibe una *norma de reacción* diferente. Los genotipos *b*, *c* y *e* siguen la tendencia poblacional, aunque el grado de plasticidad (pendiente) de cada individuo es diferente. Sin embargo, existen en la misma población genotipos que no presentan plasticidad (para este rasgo y en el rango ambiental dado, genotipo *d*), o que presentan una tendencia opuesta a la media poblacional: el genotipo *a* presenta un menor valor del rasgo en el Ambiente 2. En este caso, la presencia de una respuesta diferente por parte de cada genotipo (NRs no paralelas) indica que existe interacción genotipo x ambiente (correspondiente a $V_{G \times E}$, ver Recuadro 1.1), es decir que existe variación genética para la propia plasticidad, lo cual es la base para que exista selección para la plasticidad (Gavrilets & Scheiner 1993; Scheiner 1998; Doughty & Reznick 2004; Whitman & Agrawal 2009).

ORIENTACIONES FUTURAS: PREGUNTAS QUE PERMANECEN Y OPORTUNIDADES DE AVANCE

Como en cualquier rasgo, existen limitaciones que podrían afectar la expresión de la plasticidad en el comportamiento (Auld, Agrawal & Relyea 2010). Estos podrían incluir una falta de variación genética subyacente, relaciones alométricas entre atributos de señal y el tamaño corporal, compensaciones entre los rasgos, y el papel limitante que la historia filogenética puede tener en la expresión de valores particulares o plasticidad del rasgo. En este contexto y de cara a los resultados obtenidos a partir de la revisión de la literatura, se proponen tres enfoques que serían fundamentales para seguir avanzando en el estudio de la flexibilidad en la comunicación acústica: 1) un uso más amplio del enfoque de norma de reacción; 2) el esclarecimiento de cuáles escenarios, tanto a nivel fisiológico, como ecológico y evolutivo, promueven este tipo de flexibilidad; y 3) el estudio de la interacción entre la filogenia y la plasticidad del comportamiento y el papel que podrían desempeñar las restricciones evolutivas en la capacidad de los diferentes taxa de expresar plasticidad en sus señales acústicas.

Un enfoque a través de la norma de reacción

En primer lugar, hay una necesidad de avanzar en la descripción de las normas de reacción en rasgos comportamentales. Las posibles consecuencias ecológicas y evolutivas de la plasticidad se han explorado varias veces en la literatura (Via *et al.* 1995; DeWitt, Sih & Wilson 1998; Schlichting & Pigliucci 1998; Agrawal 2001), pero son comparativamente pocos los que han puesto a prueba empíricamente estas predicciones para las señales acústicas y sus atributos (e.g. Zhou *et al.* 2008; Gross *et al.* 2010; Ziegler *et al.* 2011). Hay una clara contribución en el estudio del comportamiento dentro de este marco. Como se mencionó antes, es una herramienta ampliamente utilizada y de fácil interpretación para entender los límites y determinantes de la conducta y su conexión con atributos de los propios individuos así como su contexto ambiental (Carroll & Corneli 1999; Nussey *et al.* 2007; Dingemanse *et al.* 2010; Ghalambor *et al.* 2010). Cabe destacar que los trabajos existentes típicamente dan cuenta de la estructura básica de la

norma de reacción, mostrando la expresión de diferentes patrones fenotípicos bajo dos ambientes contrastantes (e.g. Gross *et al.* 2010; Ziegler *et al.* 2011). Sin embargo, el análisis de la dimensión completa de flexibilidad implica extender la estimación de la relación funcional entre el fenotipo y el medio ambiente a todo el rango biológicamente significativo para el organismo (Angilletta *et al.* 2003; Miner *et al.* 2005; Sultan 2007). Asimismo, extender el conocimiento sobre la interacción entre la plasticidad y covariables clave como son el tamaño corporal (Angilletta, Steury & Sears 2004; Bauchinger & Biebach 2005) y la temperatura ambiente (Olvido & Mousseau 1995; Zhou *et al.* 2008; Ziegler *et al.* 2011) permitirá ampliar nuestro conocimiento sobre la relación entre la plasticidad y la asignación energética.

Flexibilidad en su contexto

En segundo lugar, es necesario identificar los escenarios que promueven la flexibilidad en la comunicación. En términos generales, se ha argumentado que es esperable que exista flexibilidad fenotípica en un rasgo cuando: a) el medio ambiente es variable de forma impredecible, y b) el costo promedio de mantener la plasticidad / flexibilidad es menor que el costo promedio de expresar un fenotipo en desajuste con el ambiente (Gabriel *et al.* 2005; Gabriel 2006). Pero detrás de esta amplia definición de un contexto favorable para el desarrollo de una estrategia flexible, deben existir señales más sutiles que sean los desencadenantes próximos de esta flexibilidad. Este conocimiento nos permitirá hilar diferentes datos hacia una comprensión más sólida de la plasticidad fenotípica en la comunicación acústica animal.

En este sentido, se hace necesario que los investigadores amplíen el rango de señales que generalmente se estudian como desencadenantes de comportamientos flexibles. Como se evidencia en la revisión presentada en este capítulo, existe un creciente número de publicaciones que documenta el efecto de las presiones derivadas de las actividades humanas, particularmente en referencia al aumento en los niveles de ruido tanto en ambientes urbanos como

sub-urbanos y rurales (Barber *et al.* 2010; Laiolo 2010; ver Tabla 2.1). Por el contrario, otro tipo de claves ambientales que afectan la emisión y/o propagación de las señales acústicas (e.g. la estructura del hábitat, densidad de la vegetación, variabilidad en la temperatura ambiente o densidad de co-específicos), parecen estar poco exploradas en este contexto (pero ver revisión en Tuomainen & Candolin 2011). Entre otros aspectos, un creciente número de estudios empíricos que aporten evidencia empírica acerca de las diversas causas y los límites de la respuesta plástica en señales acústicas podrá tener un mayor efecto en cuanto a integrar otras dimensiones de la biología de las especies en políticas de conservación y manejo sustentable de la diversidad (Patricelli & Blickley 2006; Barber *et al.* 2010; Pijanowski *et al.* 2011; Llusia *et al.* 2013b; Proppe, Sturdy & St Clair 2013).

Asimismo, es de esperar que exista un vínculo entre la plasticidad en señales acústicas y atributos clave a nivel individual. Las señales acústicas utilizadas para la atracción de pareja están estrechamente relacionadas tanto con el sexo como con la edad. Por ejemplo, en muchas especies de aves los machos adultos construyen su repertorio a través de la ontogenia (White & Mooney 1999). Se ha demostrado que esta plasticidad permanece presente en la edad adulta (White & Mooney 1999), y por lo tanto, es parte del mecanismo de ajuste del canto. Por otro lado, hay evidencia a lo ancho de la filogenia de que atributos de las señales acústicas tales como la frecuencia, potencia y duración, son fuertemente dependientes del metabolismo de un individuo (Gillooly & Ophir 2010; Ophir *et al.* 2010). Por lo tanto, el tamaño corporal y el estado fisiológico podrían imponer restricciones sobre la plasticidad de la señal, algo que no ha sido abordado directamente hasta el momento (pero ver el Capítulo 4 de esta tesis).

Flexibilidad a través de la filogenia

Por último, sería de esperar que la intensidad y la naturaleza de la plasticidad presente una variación dependiente del nivel taxonómico de análisis. Aunque es comúnmente aceptado que la plasticidad fenotípica tiene su propia base genética y que existe selección a favor de que ésta se mantenga (Buskirk & Relyea 1998; Van Kleunen & Fischer 2005; Lind *et al.* 2011), su evolución ha eludido a los análisis filogenéticos comparativos explícitos (Pigliucci, Cammell & Schmitt 1999). En este sentido, los mamíferos y las aves son, con amplia ventaja, los taxa más representados al buscar evidencia sobre la plasticidad de las señales acústicas (Tabla 2.1). Sin embargo, si esto refleja, de hecho, cómo la flexibilidad se distribuye a través de la filogenia, es algo que aún falta explorar.

Las explicaciones propuestas para el desarrollo de flexibilidad en las señales acústicas en estos taxa van desde su capacidad para exhibir comportamientos complejos hasta la presencia de centros de procesamiento neuronal altamente derivados (Sol *et al.* 2005; Eliades & Wang 2008; Griebel & Oller 2008; Keller & Hahnloser 2009; Remedios, Logothetis & Kayser 2009; Tschida & Mooney 2012). En este sentido, la flexibilidad del comportamiento ha sido señalada como una capacidad que se ha desarrollado en taxa con sistemas de comunicación y repertorios de elevada complejidad (Griebel & Oller 2008). La base neural de este tipo de ajustes en el comportamiento muy probablemente implique mecanismos de retroalimentación con el medio ambiente o con estímulos internos (Eliades & Wang 2008; Osmanski & Dooling 2009; Sober & Brainard 2009). Sin embargo, estudios empíricos han demostrado que estos mecanismos no necesariamente están arraigados en centros de procesamiento superiores o más derivados evolutivamente (Kelley 2004; Almlil & Wilczynski 2009, 2012). Como se desprende del importante número de estudios sobre invertebrados o de algunos de vertebrados (e.g. peces, anfibios) presentados en la Tabla 2.1 en los que el sistema nervioso está caracterizado por una reducida complejidad, así como la inexistencia de ciertas áreas del cerebro (e.g. ausencia de neocortex o neostriatum, áreas que sí están presentes en mamíferos y aves,

respectivamente) (Reader & Laland 2002; Lefebvre, Reader & Sol 2004; Reader, Sol & Lefebvre 2005). Estudios recientes han hecho un intento de avanzar en esta dirección, tanto en términos teóricos (Dingemanse et al. 2010; Ghalambor et al. 2010) como empíricos, extendiendo la existencia de estudios sobre flexibilidad en atributos de la comunicación acústica a los llamados grupos más basales, como ser los peces (Amorim et al. 2011), anfibios (Ziegler *et al.* 2011; Hanna *et al.* 2014), e invertebrados (Zhou *et al.* 2008; Cordes *et al.* 2013).

Parece claro que la posibilidad de ajustar las señales acústicas de acuerdo al contexto es muy diferente entre los diferentes taxones. El cuadro general sugiere un gradiente: en un extremo, los invertebrados, peces y anfibios serían capaces de ajustar atributos "básicos" temporales y espectrales (intensidad, frecuencia, duración). Mientras que en el otro extremo del gradiente, los primates podrían ser capaces de modular las señales de formas más complejas. Sin embargo, dado el lento pero creciente número de estudios que dan cuenta de la existencia de plasticidad en señales acústicas para una amplia variedad de taxa, no sería extraño que la diversidad de rasgos plásticos en la comunicación muestre un patrón mucho más complejo en el árbol evolutivo del que se pensaba.

CONSIDERACIONES FINALES

Considerar a la comunicación acústica animal a través de la lente de la plasticidad fenotípica ofrece nuevas herramientas y enfoques que deberían ser considerados. De hecho, el enfoque a través de la plasticidad fenotípica podría traer nueva luz al estudio de la variabilidad en las señales acústicas, y de las implicancias ecológicas y evolutivas de dicha variabilidad, tanto a nivel intra- como interespecífico (Nussey et al. 2007; Ghalambor et al. 2010). Es necesario acentuar la contribución que el marco teórico desarrollado puede hacer a nuestra comprensión de las connotaciones ecológicas y evolutivas de la plasticidad del comportamiento. La capacidad de los individuos de responder en forma directa a claves y estímulos ambientales, ajustando sus vocalizaciones ha generado inferencias sobre su significado adaptativo. Sin embargo, este tipo de ajustes quizás no siempre impliquen una ventaja en términos de preservar inalterado el mensaje en el contexto de la comunicación.

En este sentido, algunos estudios han demostrado que los cambios plásticos en respuesta al ambiente, orientados a mantener una buena propagación en el espacio pueden llevar a una disrupción en la información de las señales (Nemeth & Brumm 2010; Halfwerk *et al.* 2011). Por otro lado, algunas especies parecen no tener la capacidad de realizar ajustes significativos en las señales acústicas (ver Barber et al. 2010). Mediante la generación y acumulación de normas de reacción en señales acústicas de una diversidad de taxa y comprendiendo diferentes efectos causales (e.g. Gross, Pasinelli & Kunc 2010; Ziegler, Arim & Narins 2011) se puede ser optimista acerca de la emergencia de una imagen más clara en cuanto al rango taxonómico y las características generales de esta flexibilidad.

CAPÍTULO

3

Plasticidad del canto de *Hypsiboas pulchellus* en respuesta a ambientes con distinto nivel de atenuación, y su dependencia del estado fisiológico

Manuscrito en preparación

RESUMEN

La variación individual en las señales acústicas tradicionalmente ha sido vista como error, en un marco general de adaptación de las señales al ambiente para maximizar su propagación. Sin embargo, existe evidencia creciente acerca de la capacidad en diversos taxa de ajustar las características de la señal al contexto ambiental en escalas temporales cortas. En este capítulo se explora la capacidad de los machos de *Hypsiboas pulchellus* de ajustar las características de su canto de anuncio a un gradiente de atenuación. Se utilizaron dos tratamientos de atenuación (alta y baja), y un control de procedimiento que no representaba cambios en la atenuación respecto a las condiciones de campo libre. Los datos fueron analizados con dos enfoques complementarios: a) mediante un ANOVA de bloques aleatorios, utilizando las medianas de cada tratamiento por individuo, y b) con modelos mixtos, donde se incluyó la condición corporal como efecto fijo. Los resultados de ambos análisis fueron congruentes, mostrando que existe flexibilidad en respuesta a las características de propagación del ambiente. Asimismo, el factor individuo fue significativo en ambos tipos de análisis, apuntando a efectos idiosincrásicos de los mismos. La respuesta general de los individuos frente al tratamiento de baja atenuación fue congruente con un ajuste para maximizar la propagación de la señal frente a la atenuación del ambiente, presentando además interacción significativa con la condición corporal. Tanto el tratamiento de atenuación alta como el control de procedimiento produjeron resultados heterogéneos, siendo la respuesta de los individuos similar para ambos tratamientos. Su interacción con la condición corporal también fue significativa para la mayor parte de las variables. Este estudio representa el primer reporte de flexibilidad en respuesta a la atenuación sonora del ambiente ampliando la norma de reacción. Además, apunta a la plasticidad como atributo dependiente del estado fisiológico de los organismos. Por último, la capacidad de los organismos de ajustar sus señales emerge como un fenómeno complejo, no sólo como compensación a la degradación de las señales, sino integrando otras claves ambientales, e influida por la condición fisiológica del organismo.

INTRODUCCIÓN

Las señales acústicas juegan un rol fundamental en la comunicación de los anuros, facilitando interacciones sociales, mediando en la reproducción y determinando la vulnerabilidad o riesgo de depredación (Gerhardt 1994; Page & Ryan 2005; Bernal *et al.* 2007). Las características físicas del hábitat en que se encuentra vocalizando un organismo producen un patrón único de degradación y atenuación de la señal (Forrest 1994; Bradbury & Vehrencamp 2011). El ajuste esperado en la estructura de la señal para asegurar una transmisión eficiente en un determinado ambiente ha sido formalizado en la Hipótesis de Adaptación Acústica (Morton 1975; Hansen 1979; Ey & Fischer 2009). La misma 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). En este marco, la mayoría de los estudios han considerado las señales acústicas como atributos fijos, determinados por procesos selectivos (Patten, Rotenberry & Zuk 2004; Boncoraglio & Saino 2007). Sin embargo, la evidencia empírica en apoyo a la asociación entre ambiente y estructura del canto ha sido inconsistente, particularmente en los anuros (Kime, Turner & Ryan 2000; Bosch & De la Riva 2004).

Recientemente se ha reportado variación en vocalizaciones a una escala espacio-temporal muy inferior a la típicamente analizada (Lardner & bin Lakim 2002; Cunnington & Fahrig 2010; Ziegler *et al.* 2011; Hanna *et al.* 2014). Específicamente, los organismos podrían ajustar, en tiempo real, los atributos del canto en respuesta al microambiente de propagación que experimentan (Lardner & bin Lakim 2002; Ziegler *et al.* 2011). Estos estudios además de llamar la atención a la escala de análisis, identifican nuevos mecanismos involucrados en la asociación observada entre canto y ambiente, incorporando el potencial papel de la plasticidad fenotípica. Estos resultados cuestionan la visión de adaptaciones fijas como determinantes de la correspondencia entre la estructura de las señales acústicas y el ambiente, otorgándole a la flexibilidad fenotípica un rol clave para la comprensión de dicha interacción (Piersma & Drent 2003). Aún así, los

estudios que han documentado la existencia de flexibilidad fenotípica en el comportamiento, y más específicamente en la comunicación acústica son muy escasos (ver Capítulo 2). Más aún si se buscan trabajos que aborden explícitamente el vínculo entre los patrones empíricos, la Hipótesis de Adaptación Acústica y el marco teórico de plasticidad fenotípica.

La plasticidad fenotípica es un área de investigación que ha alcanzado un gran desarrollo teórico y empírico (Sarkar 2004), con fuertes implicancias a nivel ecológico y evolutivo (Miner *et al.* 2005; Pigliucci 2005; Nussey *et al.* 2007). Si bien el fenómeno de plasticidad es bien conocido ya desde la década de 1960 (Via 1993 y referencias allí citadas), es en las últimas décadas que se consolida y se constituye en un marco central en la biología, dando cuenta de las variaciones en atributos tanto morfológicos como fisiológicos y comportamentales (West-Eberhard 2003; DeWitt & Scheiner 2004b; Piersma & van Gils 2011). El estudio de la plasticidad fenotípica se ha centrado tradicionalmente en el nivel poblacional (Pigliucci 2005), enfocándose en rasgos no lábiles que se expresan una única vez a lo largo de la vida de los individuos (plasticidad del desarrollo, *sensu* Piersma & Drent 2003; West-Eberhard 2003). Sin embargo, los cambios en el ambiente experimentados por los organismos frecuentemente son acompañados por ajustes en rasgos fenotípicos (comportamentales, morfológicos, fisiológicos) que presentan reversibilidad en su plasticidad fenotípica. Esto significa que son expresados de manera repetida a lo largo de la vida de cada individuo, y que presentan variabilidad a lo largo de la misma (Piersma & Drent 2003; Nussey *et al.* 2007). Este tipo de plasticidad reversible se denomina flexibilidad fenotípica (Piersma & Drent 2003) y se asume que subyace las correlaciones entre ambiente y fenotipo observadas a nivel poblacional en poblaciones naturales (Réale *et al.* 2003; Both *et al.* 2004).

La plasticidad fenotípica típicamente se modela o estudia de manera empírica a través del concepto de “norma de reacción” (Via *et al.* 1995). La norma de reacción está representada por una función que describe la variación en un determinado fenotipo en respuesta a un gradiente ambiental (Via *et al.* 1995;

Schlichting & Pigliucci 1998). Esta se caracteriza, en su forma más simple (i.e. norma de reacción lineal), por el intercepto y la pendiente, que representan el valor del atributo en el ambiente promedio y la magnitud de respuesta al cambio o gradiente ambiental, respectivamente (Schlichting & Pigliucci 1998; Nussey *et al.* 2007).

La posibilidad de mostrar una respuesta plástica frente a cambios en el ambiente está restringida por factores fisiológicos y morfológicos. Las características de la norma de reacción como ser su patrón, magnitud, velocidad de respuesta y su reversibilidad, suelen depender sistemáticamente del estado fisiológico de los organismos (David, Gibert & Moreteau 2003). Los cantos de las ranas se encuentran entre las actividades energéticamente más demandantes para animales ectotermos, llevando a incrementos en el metabolismo aeróbico de hasta 22 veces la tasa de reposo (Bucher, Ryan & Bartholomew 1982; Taigen, Wells & Marsh 1985; Taigen & Wells 1985; Wells & Taigen 1986; Prestwich, Brugger & Topping 1989). Así mismo, 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). Estos factores afectan directa e indirectamente atributos del canto tales como su duración y tasa de emisión (ver revisiones en Pough *et al.* 1992; Wells 2007). No obstante, la conexión entre la energética de los organismos y el patrón de flexibilidad fenotípica en el canto no ha sido considerada. En particular, la condición corporal es una variable fácilmente cuantificable (Jakob, Marshall & Uetz 1996; Peig & Green 2009, 2010) y que tiene un vínculo claro con la cantidad de reservas energéticas que posee un organismo para asignar (Ardia 2005; Schulte-Hostedde *et al.* 2005; Kaufman *et al.* 2007). En lo que refiere al canto y la disponibilidad de recursos para esta actividad, al aumentar la masa corporal se incrementa la cantidad de reservas en relación al gasto energético y consecuentemente el tiempo que un individuo puede dedicar al canto sin alimentarse (Wells 2001; McNab 2002). La masa también determina la inercia térmica y por tanto el estado energético para realizar una actividad sostenida (Hayes & Garland Jr 1995; Glazier 2009). Estos límites a la capacidad pueden ser de importancia biológica, en particular en lo

que hace al potencial de modular el canto en respuesta al ambiente. De esta forma, la condición o estado fisiológico de cada organismo debería interactuar con su rango de flexibilidad en los atributos del canto.

Los anfibios han sido un modelo óptimo para trabajar en temas de flexibilidad fenotípica, particularmente en estudios de ecología fisiológica (Feder & Burggren 1992; Hillman *et al.* 2009). Una serie de características hacen a este grupo particularmente adecuado y útil como modelo para el estudio de la plasticidad en la estructura de las señales acústicas: 1) la importancia del canto para los anuros en aspectos tan diversos como interacción social, reproducción o vulnerabilidad a la depredación, 2) la señal acústica experimenta variaciones inducidas por el ambiente, registrándose ajustes comportamentales en el individuo frente a variaciones en las condiciones ambientales (Tumer & Brainard 2007; Cunnington & Fahrig 2010; Ziegler *et al.* 2011; Hanna *et al.* 2014), 3) existe un cuerpo de estudio muy sólido en lo que se refiere a los atributos del canto, su base neuroetológica, y a su variabilidad en respuesta al ambiente biótico/abiótico en que son emitidos (Pough *et al.* 1992; Ryan 2001; Gerhardt & Huber 2002; Narins *et al.* 2007; Wells 2007).

En resumen, a pesar de su importancia tanto en aspectos ecológicos como evolutivos, el patrón de flexibilidad fenotípica en cantos, sus determinantes y consecuencias han sido poco considerados hasta el momento. En este sentido, la capacidad de los anuros de exhibir flexibilidad fenotípica en el canto ha sido documentada en escasos trabajos (Lardner & bin Lakim 2002; Sun & Narins 2005; Cunnington & Fahrig 2010; Ziegler *et al.* 2011; Hanna *et al.* 2014). Es por tanto necesario avanzar en la identificación del fenómeno en sí mismo, describiendo la norma de reacción y sus determinantes ecofisiológicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Organismo modelo, sitio de estudio y método de registro de cantos

Hypsiboas pulchellus es un anuro de tamaño mediano (longitud hocico-cloaca: 30–46 mm.; peso: 1.8–5,0 g.) dentro de los hílidos presentes en Uruguay. 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). Es importante destacar que ya se ha reportado flexibilidad en el canto de esta especie, así como la estructura causal que subyace a la relación entre la estructura del hábitat y las variables temporales y espectrales de su canto de anuncio (Ziegler *et al.* 2011). El trabajo de campo se llevó a cabo en el Área Protegida Privada “Indígena”, ubicada en la entrada del Balneario Solís, Departamento de Maldonado, Uruguay (34° 47' 32,85" S; 55° 22' 12.68" W), entre el setiembre y noviembre de 2011 y marzo y mayo de 2012. Los muestreos se hicieron con condiciones atmosféricas suaves en cuanto a vientos (escala Beaufort 0 a 2) y sin precipitaciones.

Los cantos de anuncio fueron grabados utilizando una grabadora digital (*solid state recorder* Marantz PMD 661) y un micrófono *shotgun* direccional (Sennheiser ME66/K6). Los sonidos fueron grabados en formato .wav con una frecuencia de muestreo de 44,1 kHz, y una resolución de 16 bit (mono). El procesamiento de las señales para la obtención de las variables del canto fue hecho en Audacity 2.0.6, editor de grabación y edición de sonido libre, de código abierto (Audacity Development Team 2014). Las variables utilizadas para el análisis fueron frecuencia dominante y duración de la nota 1, frecuencia dominante y duración de la nota 2, duración del intervalo inter-notas, duración total del canto y tasa de 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 & Huber 2002). La descripción de cada una de las variables se encuentra en la Tabla 3.1 y su representación gráfica en la Figura 3.1.

Todas las variables fueron obtenidas a partir de espectrogramas y oscilogramas generados en Audacity 2.0.6.

Tabla 3.1 Lista de atributos del canto de *Hypsiboas pulchellus* utilizados en este estudio. Las descripciones siguen las definiciones propuestas por Cocroft y Ryan (1995)

Atributo	Descripción
Frecuencia dominante	Frecuencia (armónico) del canto que contiene la mayor cantidad de energía, determinada a partir de un espectro de potencia calculado mediante una Transformada Rápida de Fourier (FFT), en este caso de cada una de las notas de <i>H. pulchellus</i>
Duración de nota	Tiempo desde el comienzo hasta el final de una nota
Intervalo entre notas	Espacio de tiempo entre las dos notas que componen un canto. De menor duración que la separación entre cantos sucesivos
Duración total canto	Sumatoria de la duración de las notas 1 y 2 y el intervalo entre notas
Tasa de canto	Variable descrita y calculada como: $(N^{\circ} \text{ total de cantos} - 1) / \text{tiempo total desde el comienzo del primer canto hasta el comienzo del último canto}$

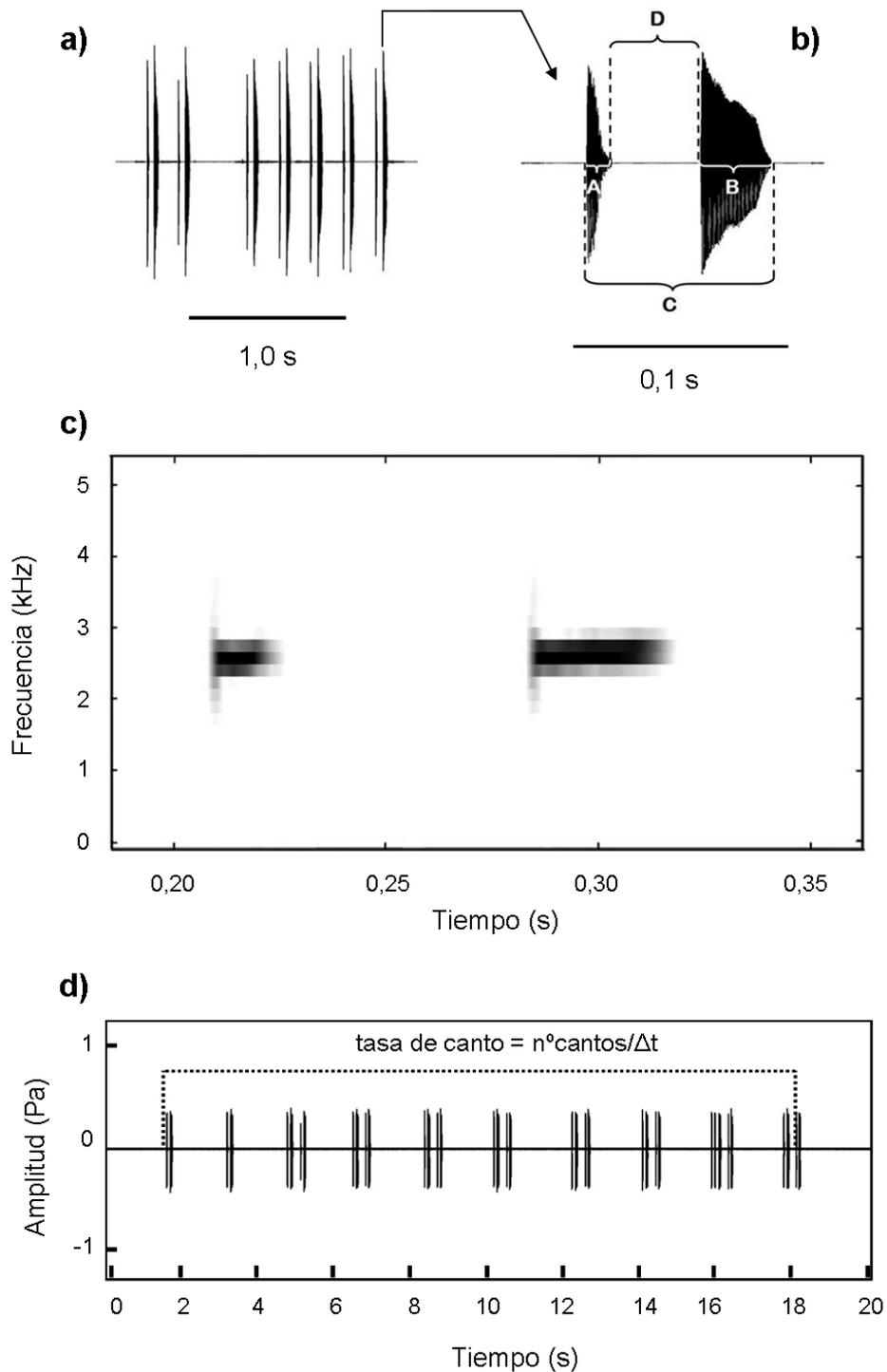


Figura 3.1 Representación gráfica de los parámetros del canto de *H. pulchellus* utilizados en esta tesis. a) Oscilograma mostrando una secuencia de siete cantos; b) Ampliación del oscilograma de un canto, mostrando la estructura del mismo: A= nota 1 (duración), B= nota 2 (duración), C= duración total del canto, D= intervalo entre notas; c) Espectrograma del canto mostrado en b), donde se observa la ausencia de modulación en frecuencia; d) Esquema del cálculo de la tasa de canto.

Protocolo experimental

Las grabaciones fueron realizadas entre las 22:00 y las 02:00, aproximadamente, que es el rango de horas en que los coros de *H. pulchellus* son más densos y estables. Una vez que se identificaba un macho vocalizando, se procedía a grabarlo bajo cuatro tratamientos.

El diseño experimental para los tratamientos consistió en una estructura de aluminio formando las aristas de un cubo de 0,5 metros de lado (Figura 3.2). Esta estructura permitió la colocación móvil, a forma de pared, de espumas acústicas con diverso grado –conocido– de atenuación sonora (Figura 3.3). Se utilizaron espumas acústicas marca Sonex serie Valueline con cuñas anecoicas, de dos grosores diferentes (20 mm y 42 mm). De esta forma fue posible generar un gradiente de atenuación progresivo, sin la aparición de ecos. Cada uno de estos dos tipos de espuma correspondió a un tratamiento (atenuación baja: espuma de 20 mm; atenuación alta: espuma de 42 mm). Adicionalmente, cada individuo se grabó en condiciones de campo libre (a aproximadamente 30 cm. de la fuente de emisión para evitar interferencias por ondas reflejadas) y utilizando solamente la estructura de la caja, pero sin las espumas (Figura 3.2). Este último tratamiento fue pensado a modo de control de procedimiento, ya que se colocaba la caja alrededor del macho que se hallaba vocalizando, pero este no experimentaba ningún tipo de atenuación sonora adicional.

Para evitar un sesgo sistemático por el orden de los tratamientos, estos fueron semi-aleatorizados: para todos los individuos grabados el primer tratamiento fue en campo libre; pero fue aleatorizado el orden de los otros 3 tratamientos (atenuación baja y alta, y control de procedimiento), utilizando la función `sample()` en R. En cada tratamiento, los individuos fueron grabados por 3 minutos (extendiéndose la grabación si a este tiempo el individuo de encontraba en una ronda de canto o *call bout*).

Se grabó un total de 16 machos, registrándose y analizándose un total de 7540 vocalizaciones. Luego de finalizados todos los tratamientos, cada macho fue pesado con una balanza de resorte (Pesola Micro Line) con una precisión de 0,05 g luego de presionar suavemente su zona abdominal inferior para estimular el vaciado de la vejiga, y su longitud hocico-cloaca medida con un calibre digital (Mitutoyo Absolute Snap Caliper Series 573) con una precisión de 0,01 mm. Para cada individuo que era grabado también se tomó la temperatura del aire en el sitio de canto con una precisión de 0,05 °C con una estación meteorológica portátil (Ambient Weather WM-4). Con los datos de masa y LHC se calculó un índice de condición corporal en base a los residuos de la relación alométrica entre los logaritmos naturales de la masa corporal y la longitud hocico-cloaca (índice residual de la condición corporal, BCI; Schulte-Hostedde *et al.* 2005).

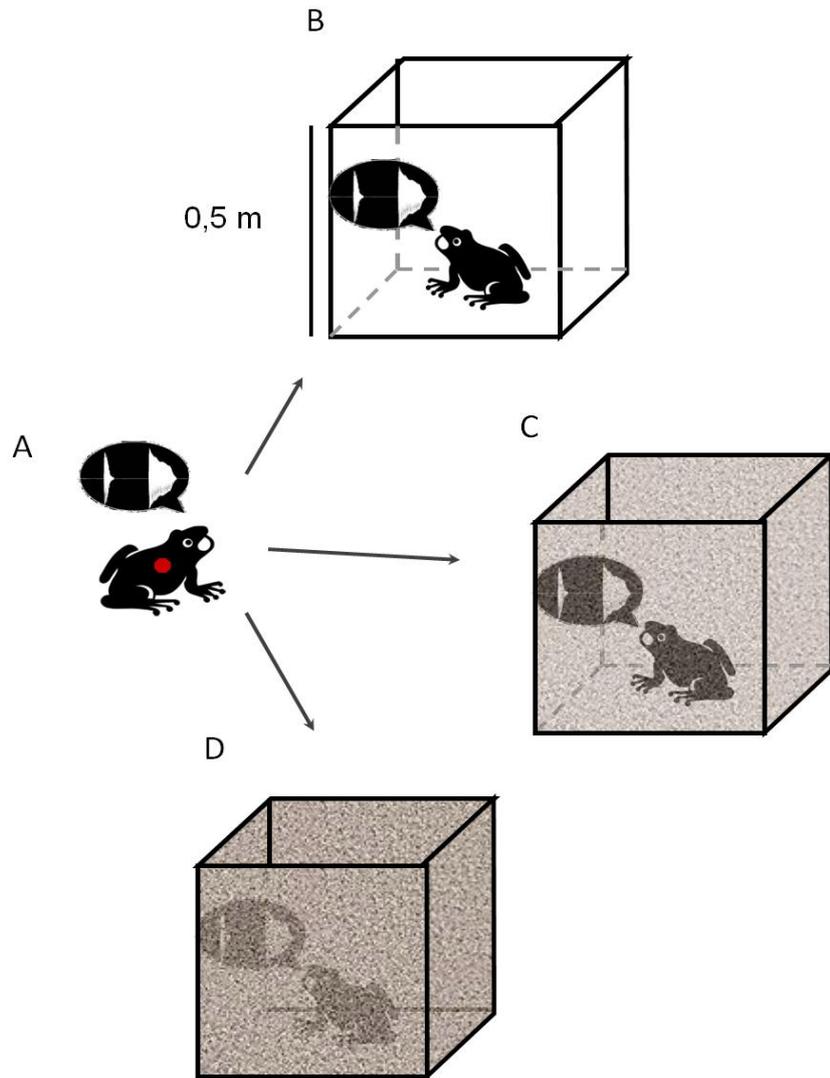


Figura 3.2 Esquema del diseño experimental para modificar la atenuación del ambiente. A) Individuo vocalizando en campo libre; B) Control de procedimiento: el individuo vocaliza “dentro” de la estructura de la caja, pero sin experimentar atenuación extra; C) Tratamiento de atenuación baja; D) Tratamiento de atenuación alta. El orden en que se presentan los tratamientos no se corresponde con el orden en que fueron presentados a los individuos (ver texto).

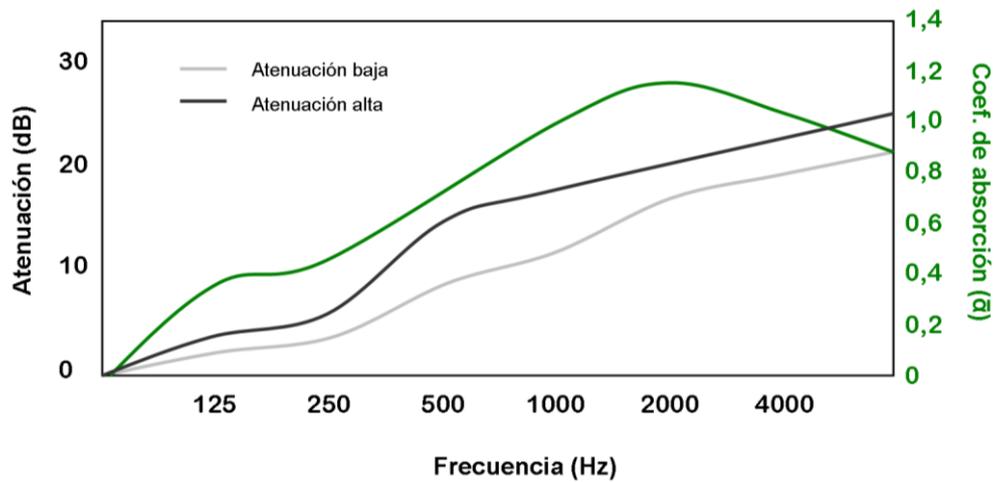


Figura 3.3 Diferencia en grado de atenuación de los tratamientos experimentales usados (solo se muestran los tratamientos de atenuación baja (gris claro) y atenuación alta (gris oscuro)). La línea verde muestra el coeficiente de absorción promedio de ambas espumas, con el mayor grado de absorción aproximadamente entre 1000 y 3000 Hz, correspondiente a la banda de frecuencia utilizada por *H. pulchellus*

Abordaje de análisis estadístico

Para el análisis de los datos obtenidos se utilizaron dos abordajes. En primer lugar, un abordaje general, que analiza la norma de reacción a nivel de la población de datos, utilizando las medianas de las diferentes variables del canto. Se decidió utilizar las medianas por sobre la media como medida de tendencia central debido a la gran cantidad de datos y la presencia de valores disparados. Los datos se analizaron como un diseño de bloques aleatorios, donde el factor Individuo representó los bloques. Para determinar qué tratamientos diferían del resto dentro del conjunto de tratamientos se utilizó el test *post-hoc* HSD de Tukey (Tukey's honestly significant difference). Este test compara la diferencia entre cada par de medias ajustando de manera apropiada por las comparaciones múltiples (Quinn & Keough 2002).

En segundo lugar, y para explorar al máximo la información contenida en la base de datos (más de 7000 cantos), se utilizaron modelos de efectos mixtos. Estos modelos son particularmente útiles cuando, como en este caso, los datos

presentan algún tipo de estructura jerárquica o de agrupación (e.g. bloques o medidas repetidas, Crawley 2007; Zuur *et al.* 2009). Los modelos mixtos han sido recientemente valorizados en el estudio de datos plasticidad fenotípica en individuos (Nussey *et al.* 2007), particularmente para analizar diferentes niveles de variación (inter- vs. intra-individual) en datos comportamentales (Nussey *et al.* 2007; Dingemanse *et al.* 2010; van de Pol 2012; Dingemanse & Dochtermann 2013). Los modelos mixtos permiten separar las variables predictoras en lo que se denomina efectos fijos y efectos aleatorios. Los efectos fijos son variables explicativas para las cuales los niveles en el experimento han sido elegidos por el experimentador (influyen en la media de la variable respuesta), mientras que los niveles de los efectos aleatorios han sido tomados de manera aleatoria de una población mayor de niveles posibles (gobiernan la estructura de varianza-covarianza de la variable respuesta) (Bennington & Thayne 1994; Crawley 2007).

Las variables de respuesta en los modelos mixtos fueron: frecuencia dominante de las notas 1 y 2, duración de las notas 1 y 2, duración del intervalo entre notas, duración total del canto y tasa de canto. En cuanto a los efectos fijos, se tomó la variable tratamiento como factor con 4 niveles. Además, para explorar el efecto del estado fisiológico de los organismos en su respuesta a los tratamientos, se utilizó el índice de condición corporal (BC), calculado en base los residuos de la regresión lineal del peso sobre la longitud hocico-cloaca (Jakob *et al.* 1996; Schulte-Hostedde *et al.* 2005). Por último, y para dar cuenta de la posible estructuración temporal de los cantos, se utilizaron dos variables para la secuencia de cantos: i) el logaritmo de la secuencia y ii) su valor lineal y cuadrático. El criterio utilizado para la elección entre las distintas variables de secuencia temporal en el modelo final fue a través del Criterio de Información de Akaike (AIC).

En todos los modelos el individuo fue modelado como un factor aleatorio. Se consideró un efecto aleatorio en el intercepto del modelo asociado al individuo que emitía el canto. Esto implica la potencial existencia de variaciones en el valor promedio de cada atributo del canto analizado, asociadas al individuo. El número

bajo de individuos involucrados limitó la consideración de potenciales efectos aleatorios en la pendiente de las relaciones funcionales (ver Dingemanse & Dochtermann 2013). Los modelos se construyeron utilizando la función `lme` incluida en el paquete `nlme` (Pinheiro *et al.* 2015) disponible en R.

RESULTADOS

Efecto general de los tratamientos

Se detectaron diferencias significativas en las medianas de los cantos entre tratamientos (Figura 3.4). El efecto del tratamiento fue significativo en todas las variables menos en la frecuencia dominante de la nota 1 y en la tasa de canto (Figura 3.4). El análisis *post hoc* con el test de Tukey mostró una gran variación entre los parámetros del canto en relación a los tratamientos identificados como estadísticamente significativos (Figura 3.4). Se destaca que las variables del canto analizadas nunca fueron significativamente distintas entre el tratamiento control y el de mayor atenuación (Figura 3.4), que a su vez fueron distintos de las condiciones de campo libre en cuanto al intervalo entre notas, la duración total del canto y la frecuencia dominante de la nota 2 (Figura 3.4b,e,f). La respuesta al tratamiento de baja atenuación fue significativa para la frecuencia y duración de la nota 2, la duración de la nota 1 y el intervalo entre notas. Asimismo, la respuesta a este tratamiento fue significativamente distinta al de atenuación alta y al control de procedimiento para todas las medidas de duración (Figura 3.4c,d,e,f)

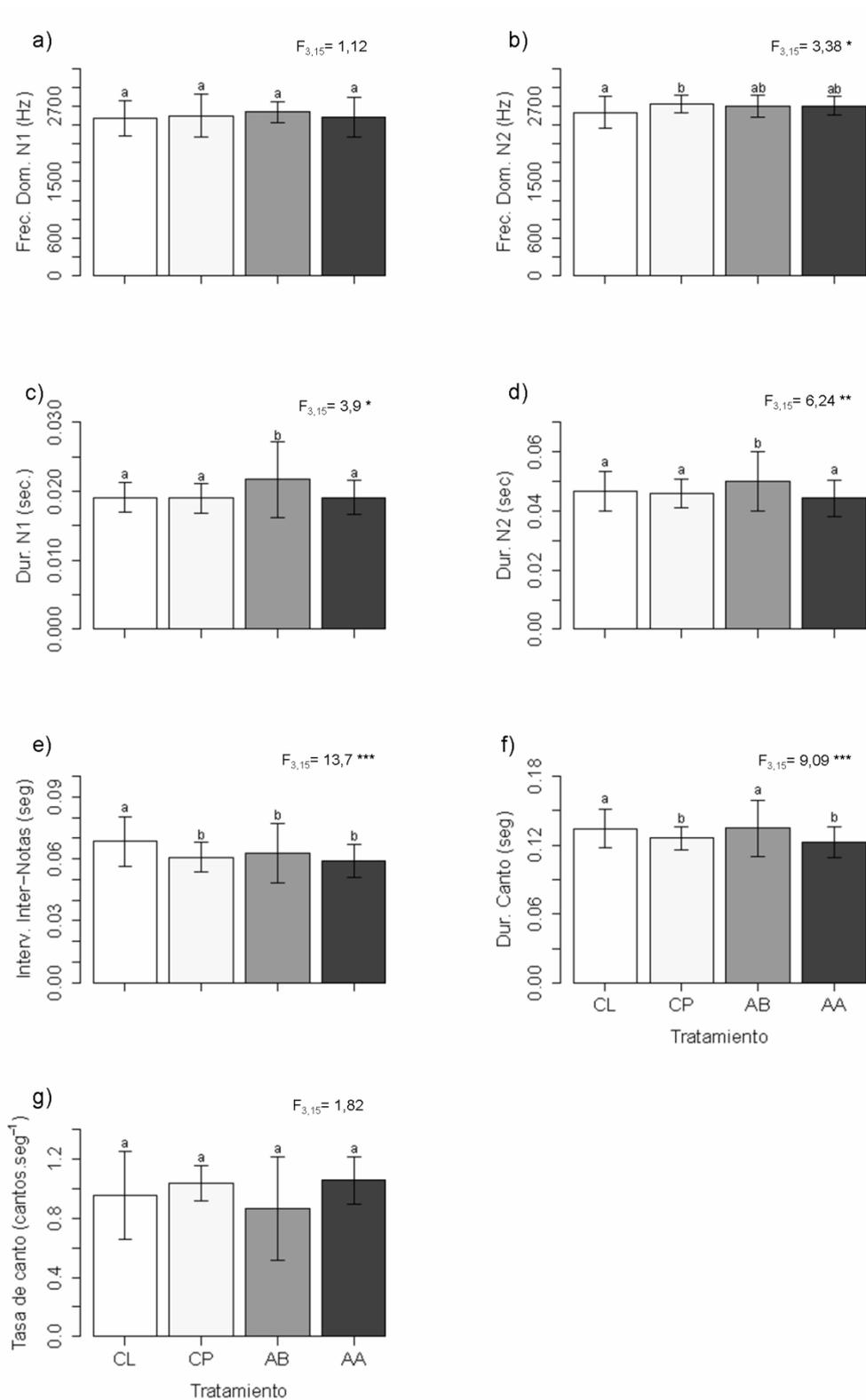


Figura 3.4 Resultado del análisis de varianza para las siete variables del canto analizadas. Se muestra el valor del estadístico F seguido del nivel de significancia (' = no significativo; * =0,05; ** = 0,01; ***= 0,001). Se indica qué tratamientos fueron diferentes entre sí a partir del resultado del test de Tukey HSD. CL: campo libre; CP: control de procedimiento; AB: atenuación baja; AA: atenuación alta.

Modelos mixtos

Los modelos mixtos consistentemente identificaron un componente idiosincrásico en los atributos del canto (Figuras 3.5). Asimismo, este análisis permitió detectar interacciones significativas entre la respuesta a los tratamientos y el estado de los organismos (Figuras 3.6 y 3.7). El único tratamiento que fue consistentemente significativo para todas las variables consideradas fue el de baja atenuación. Los individuos disminuyeron la frecuencia dominante de ambas notas y aumentaron la duración de las mismas, así como la duración total del canto, en respuesta al tratamiento de baja atenuación (Figura 3.5). Este tratamiento también tuvo una interacción significativa con la condición corporal: los individuos con mejor condición corporal fueron capaces de ajustar su canto (Figuras 3.6 y 3.7; Tabla 3.2).

Congruentemente con lo reportado para el análisis de varianza, el tratamiento de alta atenuación y el control de procedimiento presentaron resultados heterogéneos, aunque tendieron a ser similares entre sí (ver más abajo). El tratamiento de mayor atenuación fue significativo para todas las variables del canto excepto para aquellas relacionadas a la nota 2 (tanto su frecuencia como su duración). En cuanto a la interacción tratamiento - condición corporal, ésta fue significativa en todos los parámetros del canto analizados (Figuras 3.6 y 3.7; Tabla 3.2). Por último, el control de procedimiento fue significativo para las variables temporales duración de la nota 1, intervalo entre notas y duración total del canto. También fue significativa su interacción con la condición corporal a excepción de la frecuencia de la nota 1 (marginamente significativo) y el intervalo entre notas (no significativo) (Figura 3.6a y 3.7c; Tabla 3.2).

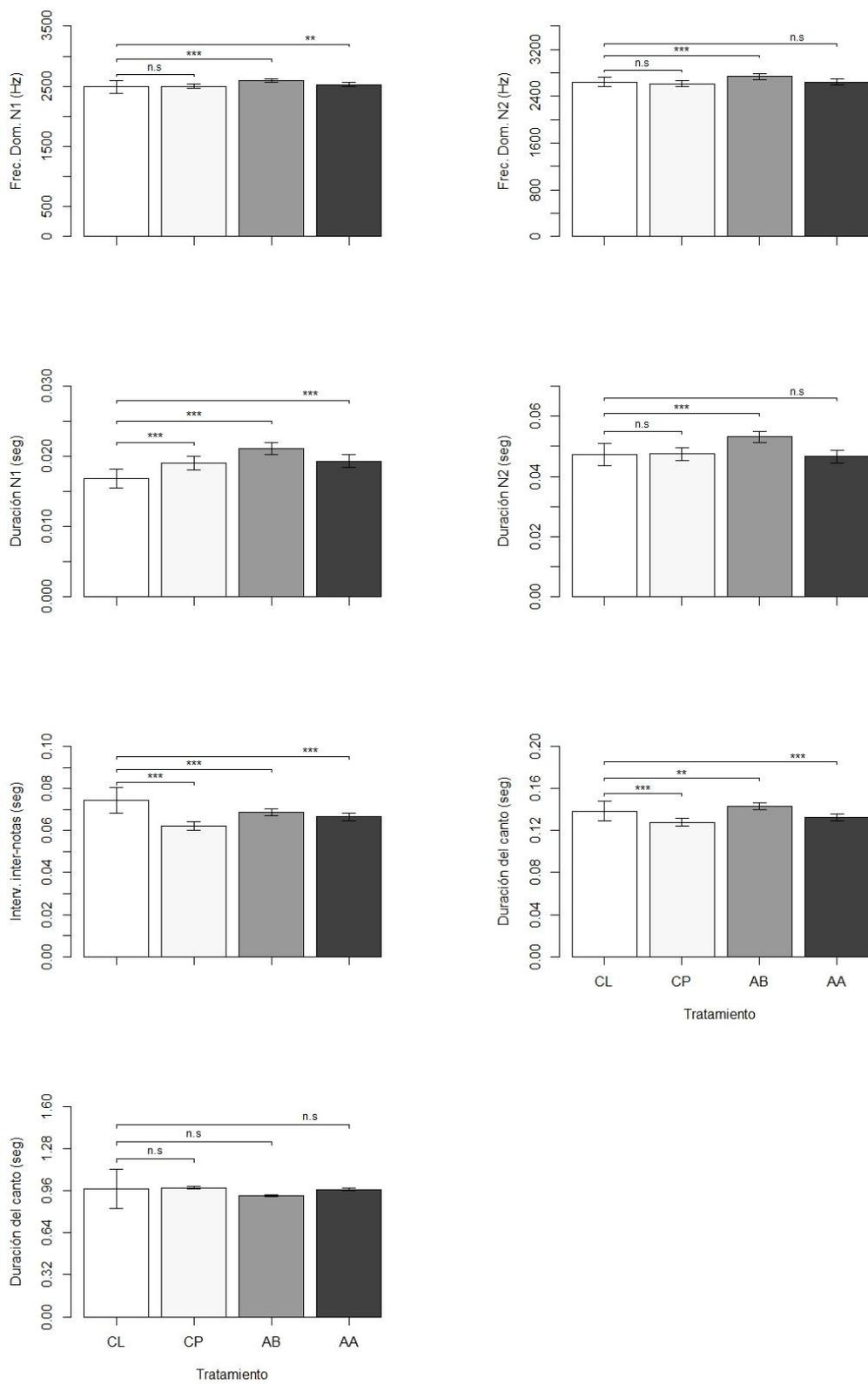


Figura 3.5 Diferencias entre los tratamientos y el registro en campo libre obtenidas a partir de los modelos mixtos de cada una de las variables del canto. n.s = no significativo; * =0,05; ** = 0,01; ***= 0,001. CL: campo libre; CP: control de procedimiento; AB: atenuación baja; AA: atenuación alta.

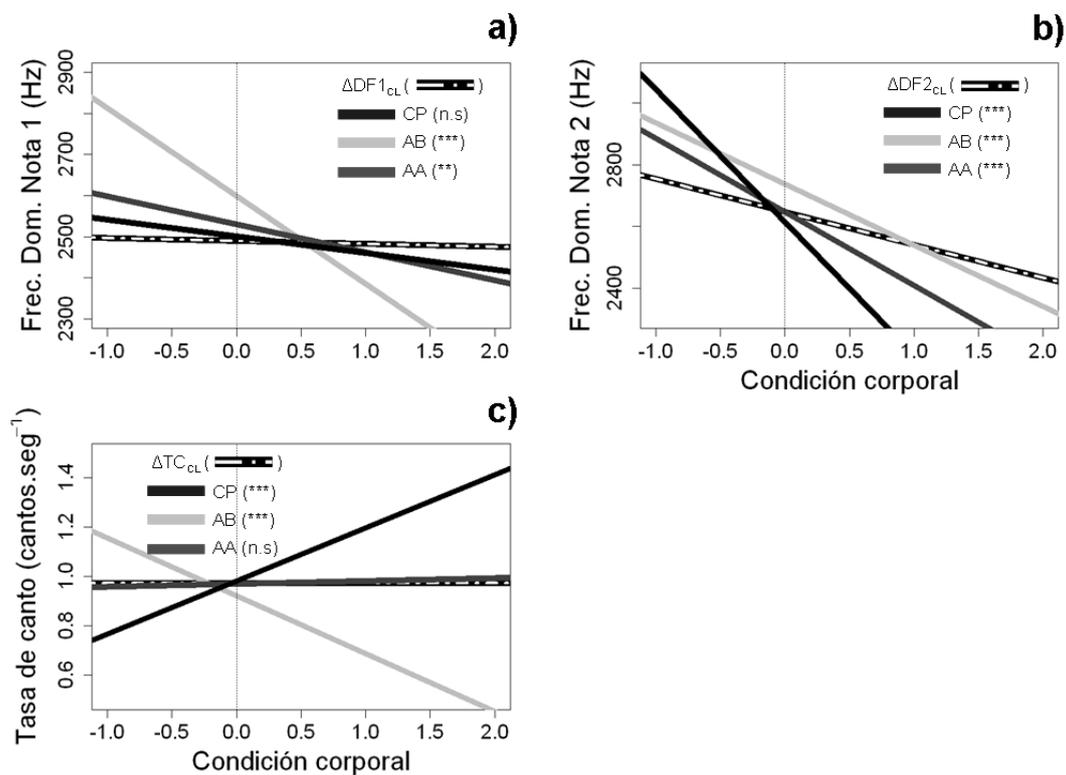


Figura 3.6 Interacción entre plasticidad y condición corporal. Se muestra la incidencia de plasticidad en los distintos tratamientos (CP: control de procedimiento; AB: atenuación baja; AA: atenuación alta) respecto al canto en campo libre (CL) en función del índice de condición corporal de los individuos. a) Frecuencia dominante de la nota 1; b) frecuencia dominante de la nota 2; y c) tasa de canto. Se indica si la interacción entre tratamiento y condición corporal fue significativa respecto a las condiciones naturales (* = 0,05; ** = 0,01, *** = 0,001; n.s = no significativo).

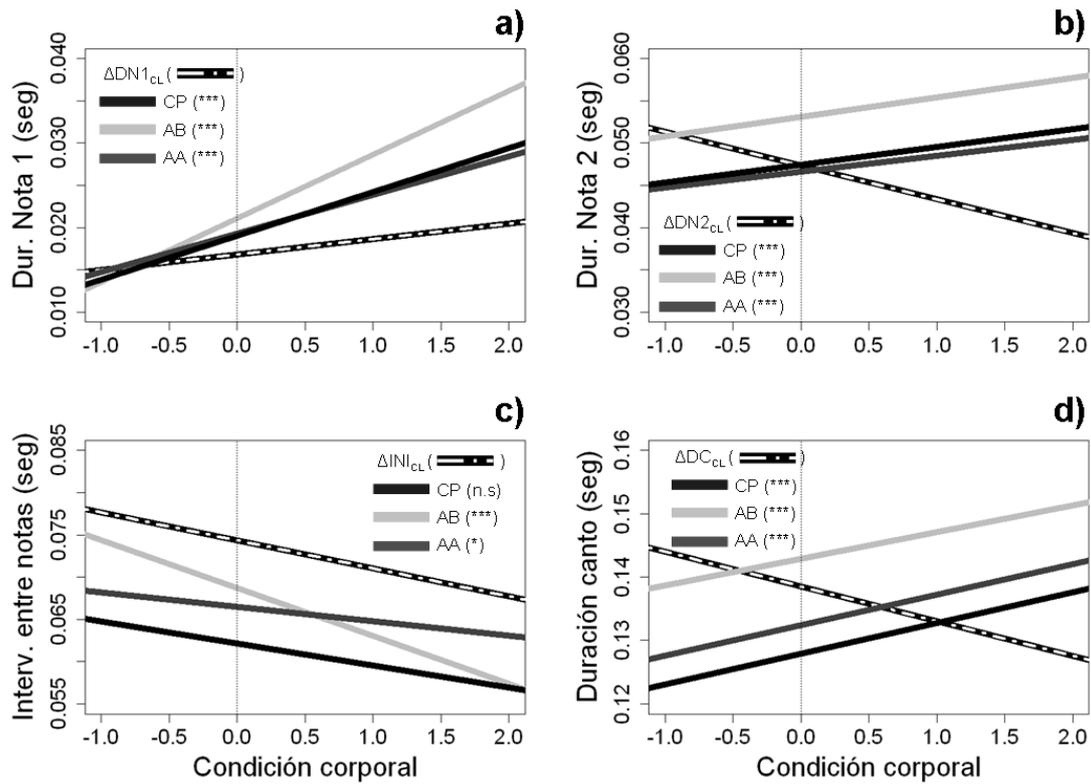


Figura 3.7 Interacción entre plasticidad y condición corporal. Se muestra la incidencia de plasticidad en los distintos tratamientos (CP: control de procedimiento; AB: atenuación baja; AA: atenuación alta) respecto al canto en campo libre (CL) en función del índice de condición corporal de los individuos. a) Duración de la nota 1; b) Duración de la nota 2; c) Intervalo entre notas; y d) duración total del canto. Se indica si la interacción entre tratamiento y condición corporal fue significativa respecto a las condiciones naturales (* = 0,05; ** = 0,01; *** = 0,001; n.s = no significativo).

Tabla 3.2 Resumen del resultado de los modelos mixtos las distintas variables del canto (columnas; DF1: frecuencia dominante de la nota 1; DF2: frecuencia dominante de la nota 2; DN1: duración de la nota 1; DN2: duración de la nota 2; IEN: intervalo entre notas; DC: duración del canto; TC: tasa de canto). La columna “Término” indica los términos incluidos como factores fijos en los modelos (las celdas en gris indican que ese término no fue incluido en el modelo de la variable respectiva).

Término	FD1	FD2	DN1	DN2	IEN	DC	TC
Intercepto	2489,7 (***)	2647,2 (***)	0,017 (***)	0,047 (***)	0,074 (***)	0,14 (***)	0.97 (***)
Trat(sm)	10,9	-33,6	2,2.10 ⁻³ (***)	6,0.10 ⁻⁵	-0,012 (***)	-0,011 (***)	9,0.10 ⁻³ (·)
Trat(ef)	108,9 (***)	90,3 (***)	4,3.10 ⁻³ (***)	5,7.10 ⁻³ (***)	-5,6.10 ⁻³ (***)	4,4.10 ⁻³ (**)	-0,052 (***)
Trat(eg)	41,2 (**)	-0,7	2,5.10 ⁻³ (***)	-7.6.10 ⁻⁴	-7,8.10 ⁻³ (***)	-6,1.10 ⁻³ (***)	3,5.10 ⁻³
Seq	0,11						
Seq ²	-1,5.10 ⁻³ (·)						
logSeq		-16,9 (·)	1,4.10 ⁻³ (***)	1,7.10 ⁻⁴	-3,1.10 ⁻³ (***)	-1,4.10 ⁻³ (*)	
BC	-7,01	-106,4	1,8.10 ⁻³	-4,0.10 ⁻³	-3,3.10 ⁻³	-5,5.10 ⁻³	3,9.10 ⁻⁴
Trat(sm):Seq	0,29						
Trat(ef):Seq	0,90 (**)						
Trat(eg):Seq	0,22						
Trat(sm):Seq ²	1,1.10 ⁻³						
Trat(ef):Seq ²	-5,6.10 ⁻³ (***)						
Trat(eg):Seq ²	6,0.10 ⁻⁴						
Trat(sm):logSeq		77,04 (***)	-7,1.10 ⁻⁴ (**)	2,0.10 ⁻⁴	3,8.10 ⁻³ (***)	3,6.10 ⁻³ (***)	
Trat(ef):logSeq		-6,3	-1,9.10 ⁻³ (***)	-3,4.10 ⁻³ (***)	-7,4.10 ⁻⁴	-6,0.10 ⁻³ (***)	
Trat(eg):logSeq		39,01 (**)	-1.3.10 ⁻³ (***)	-3,6.10 ⁻⁴	6,8.10 ⁻⁴	-9,5.10 ⁻⁴	

Trat(sm):BC	-33,7 (·)	-323,6 (***)	$3,3 \cdot 10^{-3}$ (***)	$6,1 \cdot 10^{-3}$ (***)	$7,1 \cdot 10^{-4}$	0,010 (***)	0,21 (***)
Trat(ef):BC	-206,9 (***)	-92,04 (***)	$5,7 \cdot 10^{-3}$ (***)	$6,3 \cdot 10^{-3}$ (***)	$-2,4 \cdot 10^{-3}$ (***)	$9,7 \cdot 10^{-3}$ (***)	-0,23 (***)
Trat(eg):BC	-61,1 (**)	-132,03 (***)	$2,7 \cdot 10^{-3}$ (***)	$5,9 \cdot 10^{-3}$ (***)	$1,6 \cdot 10^{-3}$ (*)	0,010 (***)	-0,01

DISCUSIÓN

En este capítulo se abordó el estudio de la norma de reacción en el canto de *H. pulchellus* con dos enfoques complementarios. Por una lado, un análisis que condensa los datos, enfocándose en la tendencia general de respuesta (ANOVA con las medianas). Complementariamente, los análisis basados en modelos mixtos utilizan al máximo la cantidad de datos obtenida (más de 7500 cantos), explorando particularmente la relación entre la plasticidad en el canto y la condición corporal. Ambos enfoques convergen en cuatro ideas principales: i) se confirma la existencia de flexibilidad; ii) las variables temporales (duración de elementos y espacios inter-elementos del canto) presentan mayor flexibilidad que las variables espectrales en respuesta a la estructura del ambiente; iii) la expresión de flexibilidad tiene un componente idiosincrásico, que viene dado en parte por la capacidad de asignación de recursos al canto (condición corporal); iv) existe flexibilidad frente a atributos del ambiente que no necesariamente representan una fuente de atenuación o degradación de la señal.

Este estudio representa un paso hacia la consolidación de un papel importante de la flexibilidad en los atributos de las señales (Lardner & bin Lakim 2002; Tumer & Brainard 2007; Gross *et al.* 2010; Verzijden *et al.* 2010; Bermúdez-Cuamatzin *et al.* 2011; Ziegler *et al.* 2011; Potvin & Mulder 2013; Hanna *et al.* 2014). El ajuste de las señales acústicas a las características del ambiente se ha enmarcado tradicionalmente dentro de la Hipótesis de Adaptación Acústica (HAA, Morton 1975; Forrest 1994; ver revisión en Ey & Fischer 2009). Esta hipótesis presenta predicciones concretas respecto a los ajustes esperados en la estructura las señales acústicas de acuerdo a las características del medio de propagación, de forma de minimizar la atenuación y la distorsión (degradación) con la distancia. En este estudio, los resultados obtenidos están línea con las predicciones de la Hipótesis de Adaptación Acústica respecto a que en ambientes con mayor atenuación, los elementos que componen las señales deberían de ser más largos, algo que ya había sido reportado en esta especie (Ziegler *et al.* 2011).

Es interesante destacar que de este trabajo emerge la condición corporal como un factor clave en la capacidad de los organismos de ajustar sus señales al medio de propagación. En un rango de atenuación moderada, los individuos con mejores índices de condición corporal pudieron ajustar todos los parámetros del canto (a excepción del intervalo entre notas) de manera significativa y en línea con las predicciones de la HAA (optimización de la propagación). Una nota a este respecto es el hecho de que los índices de condición corporal basados en la relación alométrica entre la masa y la longitud del cuerpo reflejan principalmente las reservas en cuanto a lípidos y proteínas (bajo la forma de masa muscular)³. Estos resultados son congruentes con el conocimiento sobre la energética del canto en anfibios, donde se asume que la emisión de elementos más largos y frecuencias más bajas es metabólicamente costoso (Ryan 1988; Pough *et al.* 1992; Prestwich 1994; Wells 2001). Las interacciones estadísticas suelen ser el componente de los análisis de regresión donde mayor información biológica puede ser extraída (Underwood 1997). En este contexto, el presente trabajo avanza en la interacción entre el ambiente físico y estado fisiológico como determinante de los atributos de flexibilidad observados en los organismos.

Sin embargo, la plasticidad en las señales emerge como un fenómeno complejo en respuesta a la percepción por parte del organismo del ambiente que lo rodea. En este sentido, enfocarse en el análisis de la plasticidad únicamente como un mecanismo para maximizar la propagación de la señal puede resultar en una visión parcial del fenómeno. Como resultado general, los tratamientos

³ En este sentido, la significancia de la condición corporal calculada de esta forma en la capacidad de ajustar las señales podría ser un indicio del uso de reservas lipídicas como principal sustrato energético para el canto en *H. pulchellus*. Si bien la base energética para el canto es considerada como una mezcla de glucógeno y lípidos en diversas especies de anfibios (Taigen & Wells 1985; Grafe 1996; Bevier 1997; Grafe & Thein 2001; Carvalho, Gomes & Navas 2008), en especies con tasas de canto elevadas y/o períodos reproductivos largos (como es el caso de *H. pulchellus*), se ha reportado los lípidos como sustrato principal (Grafe 1996; Ressel 1996, 2001; Wells & Bevier 1997; Bevier 1997). Aun así, el tipo de sustrato energético utilizado podría tener relevancia en las características del canto (incluida la flexibilidad de sus atributos), lo cual ha sido poco explorado. En especies cuya extensión del período reproductivo posiblemente exija el uso diferencial de sustratos (glucógeno vs. lípidos) a lo largo del tiempo, saber cuáles son los sustratos relevantes, y cuál es la relación entre estos y la condición corporal, será sin duda un aporte para comprender los patrones de variabilidad del canto.

utilizados en este estudio pueden estar siendo percibidos por los organismos como distintos tipos de señales. Por un lado, los organismos respondieron al tratamiento de atenuación baja de manera congruente con una variación en la estructura del ambiente que pueden detectar y afrontar en forma plástica. Por otro lado, uno de los resultados más enigmáticos de este estudio es el efecto significativo del control de procedimiento y su similitud con el tratamiento de atenuación alta. Existen en principio dos posibles explicaciones para este fenómeno. Esta similitud podría originarse a partir de una respuesta similar a señales ambientales distintas. Por ejemplo, un exceso de atenuación podría generar en el individuo que se encuentra vocalizando la percepción de un cambio en el contexto social (disminución del tamaño del coro o distancia al vecino más cercano). Existe evidencia de que el contexto social afecta diversos atributos del canto, particularmente la tasa y esfuerzo de canto, así como la frecuencia (Sullivan & Wagner Jr 1988; Wagner 1989; Gerhardt & Huber 2002; Kime, Burmeister & Ryan 2004). Asimismo, los atributos de las señales acústicas que hacen a un macho más atractivo y por tanto mejor competidor generalmente aumentan su riesgo de predación, haciéndolo más conspicuo (Ryan, Tuttle & Rand 1982; Lesbarrères & Lodé 2002; Bernal *et al.* 2007; Jang 2011). El control de procedimiento puede haber sido interpretado como algún tipo de riesgo, ya que sumado a la manipulación en su entorno inmediato, es posible que al menos en ciertas condiciones, los individuos perciban visualmente al investigador y/o al micrófono en su proximidad. De esta forma, ambos tratamientos pudieron haber generado una percepción y respuesta similar a dos tratamientos implementados con la idea de generar diferentes escenarios.

Este trabajo fue desarrollado con una metodología original para abordar el estudio de la norma de reacción del canto en respuesta a la atenuación del ambiente. El desarrollo de enfoques novedosos en biología está plagado de este tipo de resultados, que aunque no esperados, suelen representar importantes contribuciones al marco teórico (Lindenmayer *et al.* 2010). Notablemente, un estudio reciente enfocado en la flexibilidad del canto en anuros también ha reportado resultados similares en otra especie y frente a otro estímulo ambiental

(nivel de ruido, Hanna *et al.* 2014). Específicamente, en ese estudio Hanna y colaboradores utilizaron 2 niveles de ruido (alta y baja frecuencia) y dos controles de procedimiento (emisión de grabaciones silenciosas) posteriores a cada uno de los niveles de ruido, evaluando el ajuste en tres parámetros del canto: duración, tasa de canto y frecuencia. La respuesta de los individuos a los tratamientos no siempre fue congruente con un ajuste para evitar el enmascaramiento de la señal y mejorar la propagación de la misma. Además, los individuos mostraron una respuesta a los controles de procedimiento que no fue explicable simplemente por un efecto residual de los tratamientos (Hanna *et al.* 2014).

La HAA ha contribuido a entender el ajuste de las señales a las características del ambiente (revisado en Ey & Fischer 2009) a nivel interespecífico (Medina & Francis 2012), intraespecífico (Gross *et al.* 2010; Bertram *et al.* 2013) y recientemente también a nivel intraindividual (Ziegler *et al.* 2011; Hanna *et al.* 2014). Sin embargo, este trabajo pone de manifiesto que cambios en las características del ambiente podrían representarse a través de tres ejes: calidad de propagación (HAA, Morton 1975; Forrest 1994), competencia acústica (Bosch & Márquez 1996; Grafe 1996; Callander *et al.* 2013) y riesgo de depredación (Greenfield & Baker 2003; Page & Ryan 2005; Bernal, Rand & Ryan 2006). Maximizar la propagación puede tener costos en cuanto al reconocimiento o atracción de la señal (Christie, Mennill & Ratcliffe 2004; Hoeschele *et al.* 2010), mientras que disminuir el riesgo de predación puede implicar señales sub-óptimas (Ryan *et al.* 1982; Page & Ryan 2005) o permanecer en un ambiente con alta competencia (i.e energéticamente demandante, Bayly & Evans 2003). Estos escenarios imponen restricciones al desarrollo de una estrategia óptima en términos de propagación de la señal (Kotiaho 2001). De esta forma, la HAA es un punto de partida para ampliar nuestra visión sobre *a)* qué aspectos del ambiente son percibidos por los organismos y en qué forma; *b)* cómo se genera la plasticidad (como un posible mecanismo de respuesta); y *c)* cuál es la relación entre el costo (e.g metabólico) de ser flexible y el potencial beneficio de ajustar la señal al medio.

El estudio de la plasticidad en señales acústicas ha estado centrado en la variabilidad a nivel poblacional (Sih 2004). En este sentido, la variación interindividuos dentro de una población ha sido tratada como ruido o error en este tipo de comparaciones (Ives *et al.* 2007; Careau & Garland Jr 2012). Y este mismo rol es el que se le ha asignado a la variación intraindividual en estudios de variación entre individuos (Head *et al.* 2012), considerando a dicha variabilidad como algo que borrona el significado y la interpretación de las señales. Sin embargo, un renovado interés en la variación intraindividual ha hecho emerger una diversidad de fenómenos a nivel individual asociados a plasticidad de los cuales es necesario dar cuenta.

CAPÍTULO

4

Escalamiento intraespecífico
en el canto de anuncio de
Hypsiboas pulchellus:
interacción entre la
temperatura, el tamaño
corporal y el estado fisiológico

Manuscrito en revisión en: *Oecologia*

RESUMEN

La comprensión de los determinantes fisiológicos y ambientales de las estrategias de asignación reproductiva es un objetivo fundamental en la biología. Debido a su alto costo metabólico, las propiedades de las señales sexuales acústicas pueden estar correlacionadas con el tamaño corporal, la temperatura y el estado fisiológico de los individuos. Recientemente fue propuesta una teoría cuantitativa para la comunicación acústica, que conecta el metabolismo con la estructura de las señales acústicas. En este capítulo analizamos el escalamiento con la masa, temperatura, y la condición corporal de los atributos espectrales y temporales del canto de anuncio de *Hypsiboas pulchellus*. Encontramos que la dependencia de la frecuencia dominante con la masa siguió el patrón esperado por un escalamiento metabólico, aunque una relación alométrica no metabólica también podría dar cuenta del patrón observado. Las variables temporales escalaron con la masa inversamente a las expectativas metabólicas, en consonancia con los modelos empíricos intraespecíficos reportados hasta la fecha. La dependencia de la temperatura de la mayoría de los atributos del canto siguió predicciones metabólicas a pesar de una considerable variación en la energía de activación calculada. Por último, la condición corporal aparece como un factor determinante de las características del canto, en interacción con la temperatura o la masa. Si bien se ha alcanzado un nivel de conocimiento importante acerca de los determinantes próximos de la variabilidad en los atributos del canto de anuncio, los mecanismos a través de los que operan parecen ser más complejos de lo que se pensaba. En concreto, estos pueden incluir: i) mecanismos no metabólicos asociados a la masa como ser el escalamiento en el aparato laríngeo y otros rasgos morfológicos vinculados a la producción de sonido; ii) la función de la asignación estado-dependiente a la reproducción; y iii) la importancia relativa de estos mecanismos a nivel intra e interespecífico. Los determinantes de las características del canto surgen como un tema clave de la investigación en ecología del comportamiento y fisiológica, con varios puntos de debate para ser analizados tanto en aspectos teóricos como empíricos.

INTRODUCCIÓN

El tamaño corporal de un organismo, su estado fisiológico y la temperatura tanto ambiental como corporal han sido identificados como los principales factores que afectan la producción de sonido en varios taxa (Prestwich 1994; McLister 2001; Amorim *et al.* 2011). En muchas especies de anuros, durante los eventos reproductivos los machos se agregan en coros donde emiten sus vocalizaciones, altamente demandantes en términos energéticos, para atraer a las hembras. De hecho, la producción de sonido en los anuros puede ser una de las actividades energéticamente más exigentes (Prestwich 1994; McLister 2001). Por lo tanto, es esperable que la actividad reproductiva de los machos deba estar severamente limitada por su capacidad metabólica (Wells & Taigen 1984; Moore & Hopkins 2009) y su condición corporal (Judge, Ting & Gwynne 2008; Bertram *et al.* 2011; Harrison *et al.* 2013).

La tasa metabólica marca el ritmo de la captación de recursos y la asignación de energía para la sobrevivencia, crecimiento y reproducción, afectando de esta forma muchos procesos biológicos, incluyendo la comunicación animal (Hayward, Gillooly & Kodric-Brown 2012). La temperatura y la masa corporal tienen un fuerte efecto en muchos procesos bioquímicos, fisiológicos y ecológicos (McNab 2002; Brown *et al.* 2004; Sibly, Brown & Kodric-Brown 2012). De hecho, existe un amplio soporte en la literatura que establece que debido a su elevado costo metabólico, algunas propiedades de las señales acústicas pueden estar correlacionados con el tamaño corporal o la temperatura (Ryan 1988; Prestwich *et al.* 1989; Pough *et al.* 1992; Wells 2007). Recientemente se ha propuesto una teoría cuantitativa que describe la dependencia de atributos clave de las señales acústicas con el tamaño corporal y la temperatura (Gillooly & Ophir 2010). Esta teoría se basa en principios bien establecidos de la energética y fisiología de los organismos (West, Brown & Enquist 1997; Brown *et al.* 2004; Allen & Gillooly 2007). En esencia, a pesar del persistente debate sobre los valores específicos del exponente (Glazier 2005, 2006; White, Phillips & Seymour 2006; White, Cassey & Blackburn 2007), se acepta como un principio general que el

tamaño corporal y la temperatura determinan la tasa metabólica (McNab 2002; Gillooly & Ophir 2010; Sibly *et al.* 2012). Adicionalmente, las tasas de disparo de las neuronas y la contracción muscular dependen a su vez directamente de la tasa metabólica masa-específica (Prestwich 1994; Bennet-Clark & Daws 1999; Hempleman *et al.* 2005). Por último, si la frecuencia del sonido es proporcional a la frecuencia de vibración de los músculos que lo producen, y si la tasa de canto (i.e. número de cantos por unidad de tiempo) se rige por las tasas de contracción muscular, se puede establecer una conexión directa entre la temperatura, la masa corporal y los atributos del canto, mediada por cambios en el metabolismo (Gillooly & Ophir 2010). Estas hipótesis se resumen en la Figura 4.1.

Esta potente conexión causal entre metabolismo y estructura de las señales acústicas permite hacer una serie de predicciones cuantitativas (ver Gillooly & Ophir 2010 y Figura 4.1): a) tanto el logaritmo natural (\ln) de la frecuencia como de la tasa de canto –una vez corregidos por la temperatura– deben ser funciones lineales del logaritmo de la masa corporal, con una pendiente de $-0,25$; b) el \ln de la frecuencia y la tasa de canto –una vez corregidos por la masa corporal– deben ser funciones lineales del inverso de la temperatura absoluta (es decir, $1/kT$) con una pendiente cercana a $-0,65$, que representa la energía de activación (Gillooly *et al.* 2001), siendo k la constante de Boltzmann expresada en electrón Voltios ($8,62 \times 10^{-5} \text{ eV.K}^{-1}$); c) por otro lado, el \ln de los atributos temporales (e.g. duración de las notas, total del canto) –una vez corregidos por la temperatura– deben mostrar una dependencia lineal con el \ln de la masa corporal con una pendiente de $0,25$; y d) cuando el \ln de las variables temporales se corrige para la masa corporal, debe ser una función lineal de $1/kT$ con una pendiente de $0,65$. Cabe señalar que la lógica detrás de estas predicciones es robusta a las variaciones en el valor de los exponentes que relacionan el metabolismo con el tamaño del cuerpo y la temperatura.

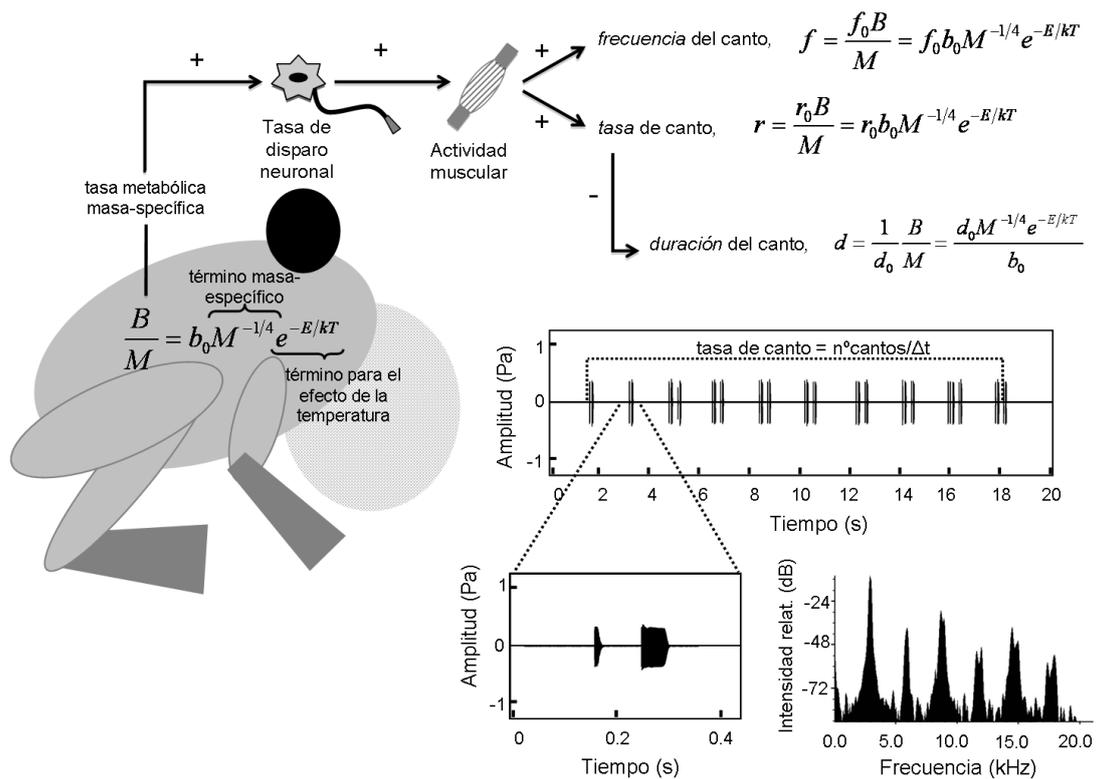


Figura 4.1 Esquema de la relación propuesta entre la tasa metabólica mása-específica y las variables del canto. La ecuación dentro del cuerpo de la rana (si, es una rana) representa la ecuación fundamental de la Teoría Metabólica de la Ecología (Brown *et al.* 2004), a partir de la cual se derivaron predicciones específicas para las señales acústicas (Gillooly & Ophir 2010; también mostradas en forma de ecuaciones). MR= tasa metabólica; B/M= MR masa-específica, f= frecuencia, r= tasa de canto, d= duración (e.g. duración total del canto, o cualquier otra variable temporal).

Por otra parte, existe un volumen importante de estudios empíricos, principalmente a niveles taxonómicos más bajos (e.g. especie, género o familia) que también ofrecen evidencia acerca de la influencia tanto del tamaño corporal como de la temperatura en las características de los cantos de anuncio en anuros (ver revisiones en Pough *et al.* 1992; Wells 2001, 2007; Hillman *et al.* 2009). En menor medida, el rol de la condición corporal en los machos y su capacidad de asignar energía a este –generalmente costoso– comportamiento también ha sido explorado (Morrison, Hero & Smith 2001; Voituron *et al.* 2012; Brepson, Voituron & Lengagne 2013). De estos trabajos, algunos patrones emergen de forma clara,

como la relación negativa entre el tamaño corporal y la frecuencia del canto, o la relación directa entre temperatura y tasa de canto. Sin embargo, existen aun muchos resultados contrastantes (ver Tabla 4.2), lo que indicaría la necesidad de obtener más datos en un rango de contextos más amplio. La consideración por separado de cada uno de estos determinantes propuestos podría ser de hecho una de las fuentes de heterogeneidad entre resultados, particularmente en cuanto a la dependencia de los parámetros del canto con la temperatura, relación en la cual la condición corporal como reflejo de los recursos disponibles podría ser un mediador importante (Luo, Ding & Ji 2010).

Esta combinación de predicciones cuantitativas y evidencia empírica representan un punto de partida excepcional para la evaluación de la teoría disponible y la construcción a partir ella. En este sentido, se pueden identificar algunos caminos fructíferos para seguir avanzando en la consolidación de una teoría general. En primer lugar, el marco teórico de la ecología metabólica aplicada a la comunicación animal hasta ahora sólo ha sido probado en el nivel interespecífico (Gillooly & Ophir 2010; Ophir *et al.* 2010). No obstante, algunas de las principales tendencias en las relaciones alométricas muestran una variación considerable cuando se analiza a diferentes niveles taxonómicos (Nee *et al.* 1991; Glazier 2005; Ginzburg & Damuth 2008). En segundo lugar, la condición corporal es un determinante principal de la conducta y la asignación de recursos a nivel del individuo (Houston & McNamara 1999; Clark & Mangel 2000). En este sentido, es esperable que individuos de tamaño corporal similar a igual temperatura ambiental y corporal, muestren variaciones en su comportamiento en función de su condición corporal (Humfeld 2013). Por último, la mayor parte de los trabajos empíricos hasta el momento se han centrado en analizar uno de los determinantes fisiológicos o ambientales a la vez, por lo que ha sido difícil unificar el efecto concomitante del tamaño corporal, la temperatura y el estado fisiológico a nivel intra e interespecífico.

Los machos adultos de *Hypsiboas pulchellus* (Duméril y Bibron, 1841) son modelos interesantes para la evaluación de la variación intraespecífica en la

estructura del canto. Entre los machos que cantan activamente, los más grandes triplican el tamaño corporal de los más pequeños (2 - 6 g), y el canto se produce en un amplio rango de temperaturas dentro de una única población (7-22 °C; Ziegler, Arim & Narins 2011). Finalmente, los machos también muestran una variación notable en la condición corporal de los individuos que se encuentran cantando activamente. Por lo tanto, tanto la masa como la temperatura y la condición corporal tienen el potencial de determinar el presupuesto energético de esta especie y su inversión en la reproducción (McLister 2001). En este capítulo se evalúa la naturaleza del escalamiento de los atributos del canto de anuncio en un gradiente de tamaño corporal, temperatura ambiente, y condición corporal en condiciones de campo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este capítulo se utilizó el canto de anuncio de 44 machos de *Hypsiboas pulchellus* (rango de tamaño: 1,85 a 5,25 g; 30,15 a 46,09 mm largo hocico-cloaca) dentro de un rango de temperatura del aire de 13° C (min = 7, max = 20). Las grabaciones fueron realizadas en condiciones de campo libre, a 30-40 cm del individuo que se estaba registrando. La metodología de grabación, y análisis de las señales acústicas, así como los parámetros del canto utilizados son las mismas que las utilizadas en el Capítulo 3 de esta tesis. Las medidas de temperatura fueron tomadas en el lugar donde cada macho estaba cantando. Las grabaciones fueron hechas entre octubre de 2010 y abril de 2011, exceptuando los meses de enero y febrero, durante los cuales las condiciones son muy cálidas y secas para que se establezcan coros de *H. pulchellus*. Después de cada grabación, se midió (longitud hocico-cloaca) y pesó cada macho según el protocolo detallado en la sección Materiales y Métodos del Capítulo 3.

Todos los análisis de datos se realizaron en R (R Core Team 2014). La condición corporal se estimó como los residuos de la relación alométrica entre los logaritmos naturales de la masa corporal y la longitud hocico-cloaca (índice residual o de la condición corporal, BCI; Schulte-Hostedde *et al.* 2005). Todas las variables fueron transformadas con el logaritmo de forma previa al análisis, con la excepción de: a) la temperatura, que según las derivaciones teóricas de la teoría metabólica (ver Gillooly *et al.* 2001) fue expresada como kT^{-1} , donde k es la constante de Boltzmann ($8.62 \times 10^{-5} \text{ eVK}^{-1}$), y T es temperatura expresada en grados Kelvin; y b) el índice de condición corporal (BCI), para el cual la masa corporal y la longitud hocico-cloaca (LHC) habían sido previamente transformadas a escala logarítmica. Se utilizaron análisis de regresión múltiple permitiendo interacciones entre las variables para evaluar de relación entre cada variable del canto y la masa corporal, la temperatura y BCI. El modelo estadístico final se identificó utilizando la selección del mejor subconjunto de modelos, implementado por el paquete *bestglm* en el software R (McLeod & Xu 2011) y mediante la clasificación de los modelos según su índices AIC (criterio de

información de Akaike). Entre los mejores modelos –aquellos que no presentaron más de dos unidades de diferencia en su AIC entre el mejor y los subsiguientes modelos– se prefirieron aquellos modelos con un menor número de parámetros y que no presentaban términos de interacción. En base a los parámetros obtenidos del modelo final, se graficó la relación de cada variable del canto analizada en función de las variables predictivas incluidas en sus respectivos modelos. Los términos de interacción se visualizaron considerando el percentil inferior (0,1) y superior (0,9) de las variables con interacción.

RESULTADOS

Se identificaron modelos estadística y biológicamente significativos para todas las variables consideradas (Tabla 4.1): frecuencia dominante de las notas 1 y 2 (FN₁, FN₂), duración de las notas 1 y 2 (DN₁, DN₂), intervalo entre las notas (INI), duración total de los cantos (CD), y la tasa de canto (CR). La masa fue un término significativo en todos los modelos, con la excepción de DN₁, donde el mejor modelo no incluía la masa corporal. El escalamiento de las frecuencias dominantes mostró el mismo patrón y una pendiente no significativamente diferente del valor predicho de -0,25 (FN₁: -0,22, IC 95%: -0,14 a -0,31; FN₂: -0,27, IC 95%: -0,19 a -0,35; Figura 4.2), en concordancia con resultados previos de otros estudios que muestran una asociación negativa con la masa. Por otro lado, las pendientes de las variables temporales (DN₂: -0,26, IC 95%: 0,03 a -0,54 ; INI: -0,20, IC 95%: -0,01 a -0,40; CD: -0,25, IC 95%: -0,02 a -0,49; Figura 4.3) y la tasa de canto (CR: 1,59, IC 95%: 0,70 a 2,50; Figura 4.4) mostraron un patrón de escalamiento con la masa corporal diferente tanto en magnitud como en el signo en relación a lo reportado en trabajos anteriores, incluyendo las predicciones derivadas de metabolismo. En cuanto a la dependencia de la temperatura, sólo los modelos para las variables espectrales no incluyeron un término con la temperatura en los modelos finales, que fue significativa en todos los demás casos. Sin embargo, los valores de las pendientes (que representan las energías de activación) variaron ampliamente, diferenciándose del valor predicho de 0,65 eV (DN₁: 0,17, IC 95%: 0,04 a 0,30; DN₂: 0,24, IC 95%: 0,12 a 0,35; INI: 0,36, IC 95%: 0,26 a 0,47; CD: 0,28, IC 95%: 0,19 a 0,37; CR: -0,45, IC 95%: -0,19 a -0,72; Figuras 4.2b,e; 4.3b,e,h,k; y 4.4b). Por último, la condición corporal fue un término significativo en la mayoría de los modelos finales (con excepción del intervalo entre notas, INI). Finalmente, tanto las frecuencias como las duraciones y la tasa de canto escalaban con la condición corporal, aunque algunas relaciones fueron marginalmente significativas (Figuras 4.2c,f; 4.3c,f,i,l; y 4.4c).

Tabla 4.1 Modelos finales para cada una de las variables del canto analizadas. Se incluye el coeficiente de determinación múltiple ajustado y el p-valor de cada uno de los modelos

Modelo	R²_{adj}	p
$FN1 \approx M + BC + \left(\frac{1}{kT} * BC\right)$	0.43	<0.001
$FN2 \approx M + BC + \left(\frac{1}{kT} * BC\right)$	0.59	<0.001
$DN1 \approx \frac{1}{kT} + BC$	0.22	0.003
$DN2 \approx M + \frac{1}{kT} + BC$	0.37	<0.001
$INI \approx M + \frac{1}{kT}$	0.54	<0.001
$CD \approx M + \frac{1}{kT} + BC$	0.54	<0.001
$CR \approx M + \frac{1}{kT} + BC + \left(\frac{1}{kT} * M\right)$	0.37	<0.001

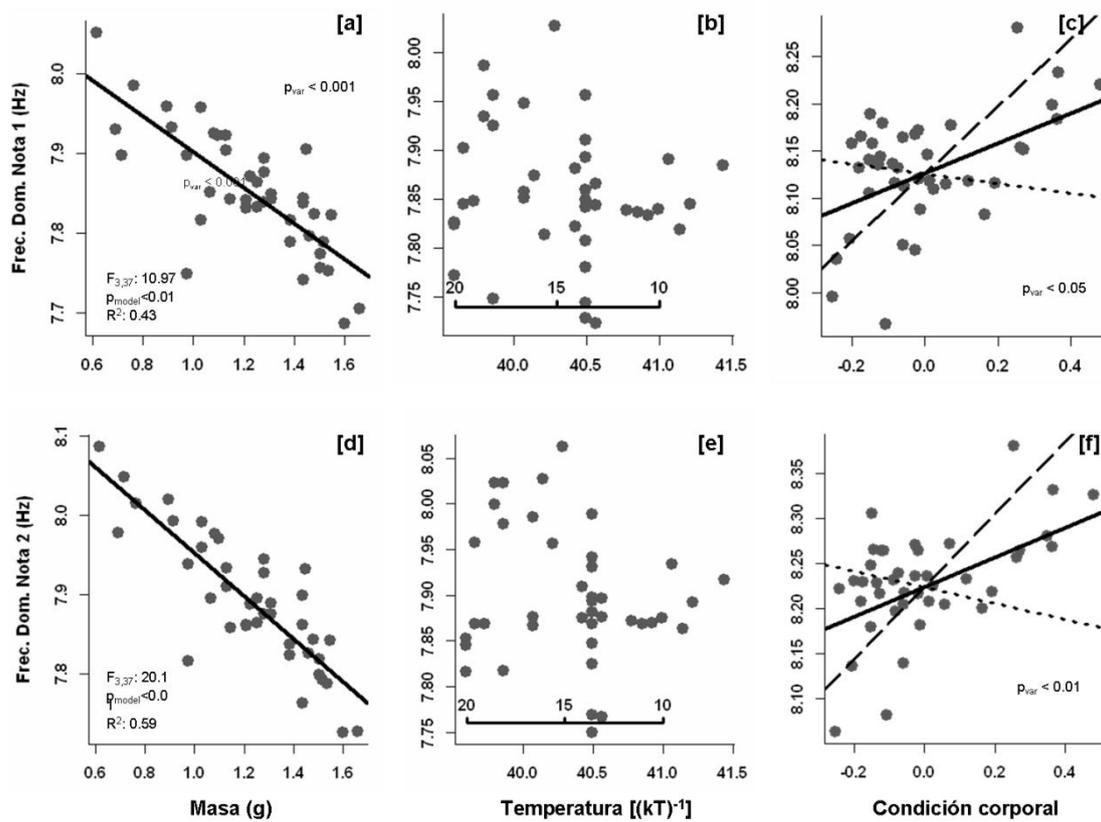


Figura 4.2 Efecto de la masa, la temperatura y la condición corporal en la frecuencia dominante del canto de *H. pulchellus*. (a - c) logaritmo natural de la frecuencia dominante de la nota 1; (d - f) logaritmo natural de la frecuencia dominante de la nota 2. En las regresiones con términos de interacción (c), la línea punteada corta indica el cuantil 0,1 mientras que la línea punteada larga indica el cuantil 0,9. Los ejes internos en los paneles b y e indican la temperatura en ° Celsius. Todos los modelos fueron significativos utilizando un $\alpha=0,05$; los estadísticos F y su correspondiente p-valor se muestran como un recuadro en el lado izquierdo de los gráficos de la columna más a la izquierda. p_{var} representa el p-valor de cada variable predictora en el modelo final para cada una de las frecuencias.

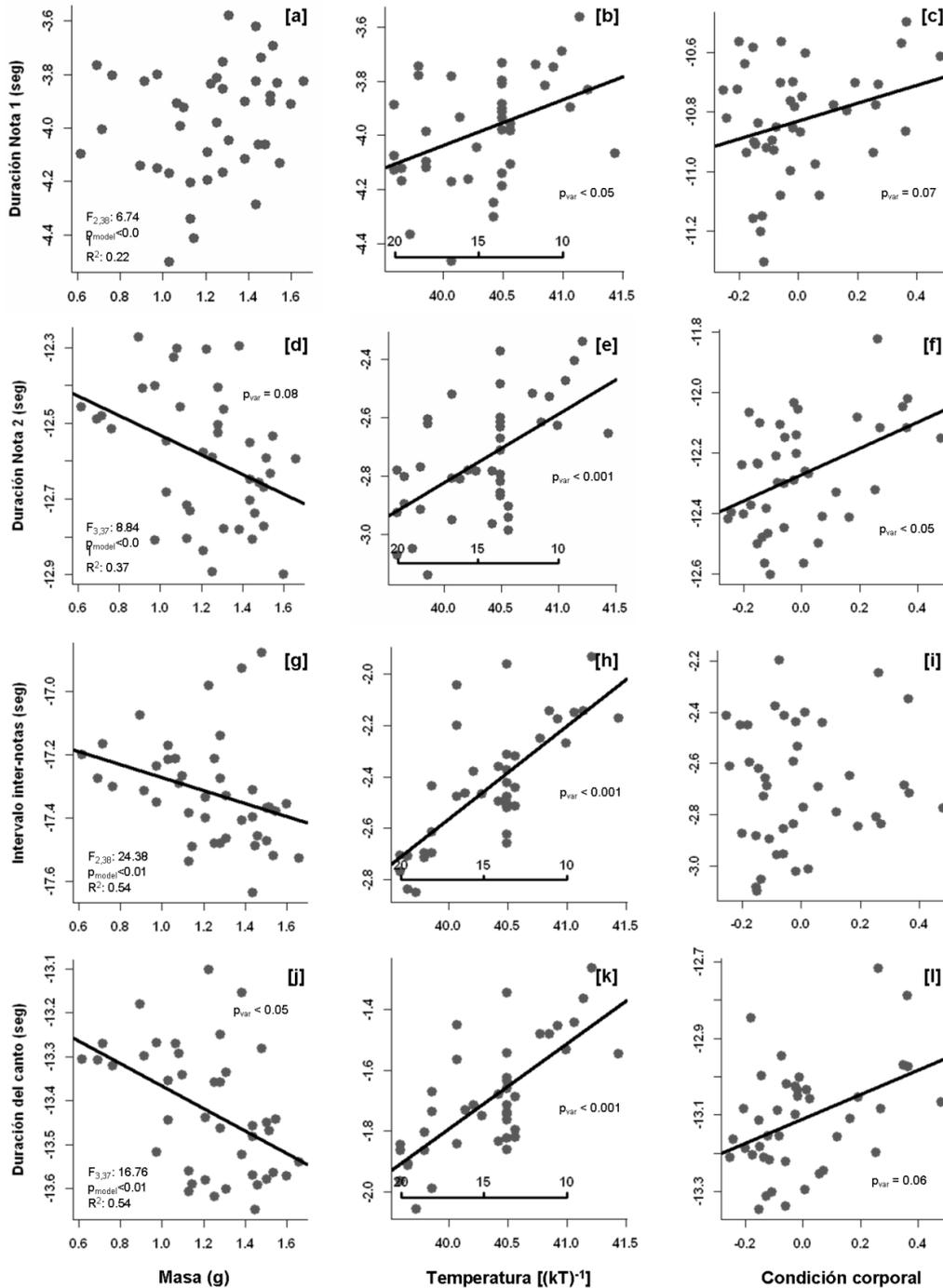


Figura 4.3 Efecto de la masa, la temperatura y la condición corporal en las variables temporales del canto de *H. pulchellus*. (a - c) logaritmo natural (ln) de la duración de la nota 1; (d - f) ln de la duración de la nota 2; (g - i) ln de la duración del intervalo entre notas; (j - l) ln de la duración total del canto. Los ejes internos en los paneles b, e, h y k indican la temperatura en °Celsius. Todos los modelos fueron significativos utilizando un $\alpha=0,05$; los estadísticos F y su correspondiente p-valor se muestran como un recuadro en el lado izquierdo de los gráficos de la columna más a la izquierda. p_{var} representa el p-valor de cada variable predictora en el modelo final para cada una de las variables temporales.

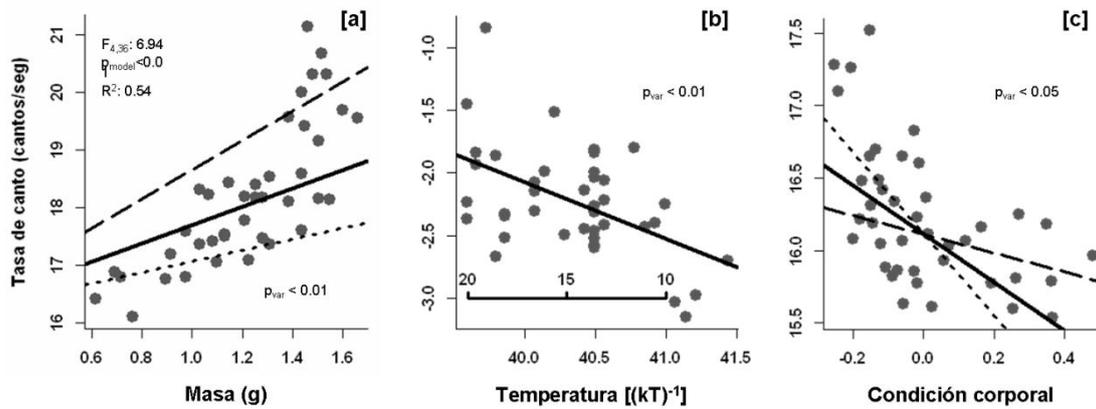


Figura 4.4 Efecto de la masa, la temperatura y la condición corporal en la tasa de canto de *H. pulchellus*. En la regresiones con términos de interacción (a, c), la línea punteada corta indica el cuantil 0,1 mientras que la línea punteada larga indica el cuantil 0,9. El eje interno en el panel b indica la temperatura en °Celsius. El modelo fue significativo utilizando un $\alpha=0,05$; los estadísticos F y su correspondiente p-valor se muestran como un recuadro en el lado izquierdo del gráfico de la columna más a la izquierda. p_{var} representa el p-valor de cada variable predictora en el modelo final de la tasa de canto.

DISCUSIÓN

Se encontraron tendencias significativas en atributos del canto a través de gradientes de tamaño corporal, temperatura ambiental, y condición corporal. Tomando como punto de partida un enfoque metabólico (Gillooly & Ophir 2010), en este capítulo se avanzó en el conocimiento de las relaciones de escalamiento de las características del canto de anuncio y su coherencia y discrepancias con la teoría existente.

La congruencia entre el escalamiento observado de la frecuencia dominante del canto con la masa corporal y el escalamiento masa-específico de la tasa metabólica con el tamaño corporal es excepcional (Figura 4.2a,d). Este escalamiento, con exponentes casi indistinguibles de $-0,25$ apoya la hipótesis de un efecto directo de la tasa metabólica masa-específica sobre la tasa de contracción muscular y la frecuencia del canto (Gillooly & Ophir 2010). Sin embargo, mientras que el exponente observado apoya firmemente una interpretación metabólica, el escalamiento a nivel morfológico (alometría) podría potencialmente dar cuenta del patrón observado a través de mecanismos alternativos. De hecho, la longitud, masa, y tensión de las cuerdas vocales, junto con otros atributos de la morfología de la laringe que exhiben una relación alométrica con la masa corporal, afectan directamente los atributos espectrales del canto (McClelland, Wilczynski & Ryan 1996; McLister 2001). En este sentido, parece no haber aún ningún trabajo que realice una predicción cuantitativa sobre el escalamiento de la frecuencia (ni ningún otro atributo del canto) derivado de las tendencias alométricas en la morfología.

Por otro lado, los parámetros temporales y la tasa de canto mostraron variabilidad en las pendientes obtenidas en relación a la masa, a partir de los diferentes modelos de regresión, con tendencias incongruentes con las predicciones de la ecología metabólica (véase las Figuras 4.3a,d,g,j y 4.4a). Al menos dos explicaciones generales podrían ser consideradas para dar cuenta de estas discrepancias. En primer lugar, mientras que las leyes biofísicas

fundamentales que están detrás de la teoría del escalamiento del metabolismo debería, por principios básicos, ser universal (Berger *et al.* 2012), se ha reportado una variación significativa. En este sentido, las tendencias de relacionamiento entre el metabolismo y la masa corporal podrían diferir entre taxa (White *et al.* 2007; Glazier 2010) e incluso entre escalas de análisis (intraespecífico vs. interespecífico, Glazier 2005). Tales discrepancias en el escalamiento del metabolismo podrían atenuar o aumentar las pendientes observadas, pero no pueden explicar el cambio de signo que se obtuvo en el presente estudio. La detección de tendencias opuestas a las expectativas teóricas es particularmente valiosa en la construcción de la teoría, obligando a la consideración de mecanismos adicionales (Sibly *et al.* 2012). En segundo lugar, el rango de valores de masa corporal abarcado en este estudio –y en la mayoría de los estudios intraespecíficos– podría no ser lo suficientemente amplio como para dar cuenta del efecto de la masa en la tasa metabólica, especialmente cuando otras fuentes de variación están involucradas (Moses *et al.* 2008). En cambio, la condición corporal podría ser una mejor representación de la capacidad metabólica cuando se trabaja a una escala taxonómica fina (Scott & Evans 1992; Bonnet, Bradshaw & Shine 1998). La emisión de señales acústicas, particularmente en anuros, es un atributo comportamental energéticamente costoso (Bucher *et al.* 1982; Mac Nally 1984; Taigen & Wells 1985; Prestwich 1994), sujeto a decisiones de asignación de energía (Stoddard & Salazar 2011). Cuestiones sobre la disponibilidad de energía y asignación normalmente no surgen cuando se trabaja con una amplia gama de taxa (por ejemplo Gillooly & Ophir 2010), pero podría ser un determinante clave de los patrones observados a nivel intraespecífico (Poorter *et al.* 2012; Brepson, Voituron & Lengagne 2013; ver Tabla 4.2).

Tabla 4.2 Resultado de la revisión de la literatura disponible en cuanto a las tendencias intraespecíficas entre ya sea la masa (M), la longitud hocico-cloaca (LHC), la temperatura (T) o la condición corporal (BCI) y los principales atributos del canto (duración total del canto, DC; tasa de canto, TC; y frecuencia dominante, FD) en anuros. Positivo, Negativo y n.s. (no significativo) indican la tendencia reportada. Los números entre paréntesis al lado de cada variable independiente indican el número de estudios encontrado que consideraban dicha variable. Una lista de las referencias que sustentan estos resultados se puede ver en el Apéndice I.

<i>Var. indep.</i>	<i>Atrib. canto</i>	<i>Positivo</i>	<i>Negativo</i>	<i>n.s</i>
BC (6)	CD	0	0	4
	CR	0	2	4
	DF	0	0	2
M (8)	CD	0	1	4
	CR	0	0	2
	DF	0	7	1
LHC (27)	CD	4	1	17
	CR	3	2	14
	DF	0	23	7
T (31)	CD	2	19	11
	CR	17	0	6
	DF	10	1	19

Las variables temporales y de tasa de canto mostraron una dependencia de la temperatura de acuerdo con las expectativas teóricas. El signo del exponente de escalamiento para la duración de las notas, intervalo entre notas, duración total del canto y tasa de canto siguió el patrón predicho por Gillooly y Ophir (2010). Sin embargo, ocurrieron diferencias importantes respecto del valor esperado para la energía de activación (i.e. $E_A = 0,65$, Gillooly *et al.* 2001; Brown *et al.* 2004). A la luz de estudios recientes que apoyan una gran variabilidad en las energías de activación cuando se compara entre taxa, rasgos funcionales, hábitat o motivación, esta discrepancia podría ser, de hecho, esperada (Dell, Pawar & Savage 2011; Price *et al.* 2012). En este contexto, la energía de activación podría ser considerada como un rasgo variable y objeto de selección para mantener su plasticidad (Irlich *et al.* 2009). Por ejemplo, los rasgos con un fuerte efecto sobre la adecuación biológica (por ejemplo, aquellos que tienen que ver con evitar la depredación) muestran energías de activación comparativamente más bajas,

relajando así su dependencia térmica (Dell *et al.* 2011). La importancia del canto para la reproducción en los anuros podría representar una presión selectiva para relajar su dependencia de la temperatura, que podría estar reflejándose en las energías de activación más bajas aquí presentadas. Esta interpretación se ve reforzada por la biología reproductiva de *H. pulchellus*, que se reproduce a lo largo de amplio rango estacional (Canavero *et al.* 2008) y térmico (Ziegler *et al.* 2011).

Los atributos espectrales fueron independientes de la temperatura (véase también Ziegler *et al.* 2011). Esto es particularmente interesante teniendo en cuenta las predicciones específicas (Ophir *et al.* 2010) y, en general, debido a que las actividades de elevado requerimiento energético en ectotermos están generalmente condicionadas por la temperatura (McNab 2002; Angilletta 2009). Sin embargo, estudios previos tanto teóricos como empíricos han mostrado resultados mezclados, con la mayoría de los resultados empíricos ofreciendo sustento a la frecuencia como independiente de la temperatura, aunque existe un número de estudios que reporta una relación positiva entre ambas variables (Amorim *et al.* 2006; Gillooly & Ophir 2010). En este sentido, otras dos ideas pueden emerger de los presentes resultados. En primer lugar, algunos estudios que se enfocan en las bases mecánicas y fisiológicas de los atributos del canto están en línea con una débil asociación de la frecuencia con la actividad muscular (McClelland *et al.* 1996) o la tasa metabólica (McLister 2001). Esto sería debido a que la frecuencia del canto se relaciona con la tensión de las cuerdas vocales y cartílagos, así como por la presencia de acumulaciones de tejido (Drewry, Heyer & Rand 1982; McClelland *et al.* 1996). Los cambios en la tensión de las cuerdas vocales son derivados, en última instancia, de la actividad muscular, pero esos músculos no son los que intervienen en la producción activa de sonido (es decir, el movimiento y el ciclado de aire; McClelland *et al.* 1996). En segundo lugar, la frecuencia es un atributo clave del canto, ya que es uno de los principales atributos en los que se basa la preferencia y selección sexual por parte de las hembras (Gerhardt 1991; Bosch, Rand & Ryan 2000). Por lo tanto, se espera que muestre una correspondencia fina entre la frecuencia emitida y la frecuencia a la

que está sintonizado el complejo auditivo de las hembras (Narins *et al.* 2007; Wells 2007). En este sentido, sería de esperar que los individuos exhibieran plasticidad para evitar cambios perjudiciales en su señal asociados con una respuesta pasiva a la temperatura (Ziegler *et al.* 2011 y Capítulo 3 de esta Tesis). La interacción significativa entre la temperatura y la condición corporal como determinantes de la tasa de canto y frecuencia también apoya esta interpretación. A temperaturas más altas, la condición corporal afecta débilmente la frecuencia del canto, mientras que a temperaturas más bajas se observa una asociación fuerte y positiva (Figura 4.2c,f). Esto sugiere que el organismo podría estar usando tanto recursos externos (i.e. temperatura) como internos (i.e. condición corporal) para abastecer los requerimientos energéticos de la emisión del canto.

La asignación de recursos dependiente de estado para la reproducción es uno de los puntos clave de la ecofisiología (Karasov 1986; Weiner 1992; Clark & Mangel 2000; Karasov & Martínez del Rio 2007; McNamara & Houston 2008). Las teorías que intentan comprender la variación en el esfuerzo reproductivo deben considerar la condición del organismo como principal determinante de la conducta a nivel individual. La mayoría de los atributos del canto analizados en el presente estudio escalan con la condición corporal, en lugar de masa, siguiendo las predicciones metabólicas. Esto puede indicar que, en determinadas situaciones, la variación intraespecífica en la condición corporal podría ser un determinante más relevante del metabolismo (White *et al.* 2007; Glazier 2009; Killen, Atkinson & Glazier 2010) y de la asignación energética (Humfeld 2013) que el tamaño del cuerpo (Humfeld 2013). Particularmente, en estudios intraespecíficos con un estrecho rango de tamaños corporales, la condición corporal puede ser un *proxy* más preciso de la capacidad metabólica (Froget *et al.* 2001). Congruentemente, la táctica empleada por los machos así como algunos de los atributos del canto (esfuerzo de canto, período y frecuencia del canto) estuvieron más relacionados con la condición corporal que con el tamaño de los machos (Humfeld 2013). La comprensión de cómo y en qué medida el metabolismo varía debido a factores distintos de la masa y la temperatura es de vital importancia, y actualmente es foco de investigación tanto teórica como

empírica (Glazier 2009, 2010; Killen *et al.* 2010). Un escalamiento del metabolismo con la condición corporal similar al observado con la masa, podría explicar la existencia de las asociaciones observadas entre características del canto y la condición corporal, que siguen las tendencias esperadas para la masa corporal.

No obstante las consideraciones anteriores, la relación negativa entre la condición corporal y la tasa de canto sugiere hipótesis alternativas que no son mutuamente excluyentes (Kokko *et al.* 2002). En primer lugar, el aumento de la tasa de canto podría implicar una táctica en la que los organismos que presentan una condición corporal pobre hacen una inversión mayor en la reproducción (e.g. esfuerzo terminal, (Candolin 1999; Hall *et al.* 2009; Brepson *et al.* 2013). En segundo lugar, los individuos que despliegan tasas de canto bajas y que sin embargo presentan una buena condición corporal podrían estar eligiendo una estrategia que maximice el tiempo (noches en el coro u horas totales de canto) durante el cual vocalizan (Brepson *et al.* 2013). De hecho, en algunos anfibios el número de días durante los cuales los machos vocalizan activamente es el principal determinante del éxito reproductivo (Green 1990; Sullivan & Hinshaw 1992; Mitchell 2001). En tercer lugar, este mecanismo causal podría también operar de manera inversa. Las vocalizaciones son, en muchas especies de anfibios, una actividad muy costosa y se ha observado que luego de varios días vocalizando, la condición corporal de los individuos decae significativamente (Schwartz, Ressel & Bevier 1995; McCauley *et al.* 2000; Castellano *et al.* 2009). El hecho de que se haya observado que los individuos con mejor condición corporal exhiban tasas de canto más bajas podría estar reflejando una baja inversión en la reproducción por parte de estos individuos.

Aunque los principales determinantes de la variabilidad del canto han sido identificados y son comprendidos en bastante profundidad (ver revisiones en Pough *et al.* 1992; Wells 2007), los mecanismos generales a través de los que estos operan están empezando a ser abordados recientemente (Gillooly & Ophir 2010; Ophir *et al.* 2010; Hayward *et al.* 2012). Los resultados aquí presentados ofrecen un apoyo claro al papel del metabolismo en la determinación de las

características del canto en machos de *Hypsiboas pulchellus* masculinos. Sin embargo, la detección de escalamientos alternativos con la masa, el rol destacado de la condición corporal y la existencia de interacciones entre estas variables y también con la temperatura, plantean la existencia de mecanismos adicionales, además de los propuestos por la ecología metabólica y sus derivaciones recientes. En este capítulo se intentó avanzar en la interacción entre los enfoques teórico y empírico, que en última instancia alimentan una ciencia saludable (Marquet *et al.* 2014).

CAPÍTULO



Discusión general

La variabilidad intraindividual en rasgos comportamentales ha cobrado relevancia en los últimos años, en gran parte debido a su potencial importancia en procesos de orden superior al individual (Estes *et al.* 2003; Bélisle 2005; Ingram, Harmon & Shurin 2009; Abrams 2010; Bolnick *et al.* 2011; Violle *et al.* 2012; Wolf & Weissing 2012). Dicha variabilidad es muchas veces resultado de flexibilidad en rasgos fenotípicos comportamentales (Luttbeg & Schmitz 2000; Miner *et al.* 2005; Fordyce 2006). Si bien este hecho es crecientemente reconocido (Capítulo 2), el trabajo realizado en esta tesis es un avance respecto a ciertos aspectos centrales. Por un lado, se trata de uno de los pocos trabajos existentes que abordan la flexibilidad en respuesta a la atenuación del ambiente (como *proxy* de la estructura física del mismo). De la revisión presentada en el Capítulo 2, surge claramente que la atención ha estado centrada en evaluar la respuesta a diferentes niveles de ruido ambiente (ver Tabla 2.1). La evidencia acerca de la creciente incidencia del ruido antropogénico en los sistemas naturales hace que este sea un claro foco de atención (revisado en Barber, Crooks & Fristrup 2010). Sin embargo, los efectos del cambio global son ubicuos (Walther *et al.* 2002; Walther 2010; Barnosky *et al.* 2012) y sus repercusiones en la comunicación animal trascienden los efectos de enmascaramiento por ruido (Laiolo 2010; Tuomainen & Candolin 2011). La revisión sistemática presentada en el Capítulo 2 condensa la masa de evidencia sobre plasticidad en la comunicación animal, particularmente a través de señales acústicas. No obstante, este capítulo también muestra el desbalance en las aproximaciones, taxa y factores causales considerados hasta el momento en el marco teórico. La flexibilidad en la comunicación acústica ha sido escasamente considerada en comparación con otros rasgos comportamentales y su conocimiento raramente excede el reporte de su existencia, con limitados avances en la norma de reacción asociada, o en sus determinantes. También debe destacarse que el estudio presentado en el Capítulo 3 de esta tesis representa el único trabajo experimental que considera más de un tratamiento experimental (además del control). Esto responde a entender la norma de reacción como la mejor y necesaria descripción de la flexibilidad fenotípica. Específicamente, una vez demostrada la existencia de flexibilidad (Capítulo 2, Nussey, Wilson & Brommer 2007; Dingemanse & Dochtermann 2013),

es necesaria la comprensión de la naturaleza y determinantes de la norma de reacción. En esta tesis se intentó avanzar en este sentido. Esta aproximación motivó el análisis de la condición corporal como factor intrínseco. El estado fisiológico de los organismos es predicho como un importante determinante de la naturaleza de la flexibilidad fenotípica observada (Jokela & Mutikainen 1995; Schwab & Moczek 2014). No obstante, se ha considerado de manera notablemente escasa en los estudios de plasticidad del comportamiento. El Capítulo 4 logra avanzar en este contexto, a la vez que incorpora aspectos novedosos de la ecología metabólica al análisis de la flexibilidad del comportamiento.

Consistencia teórica en la plasticidad del comportamiento

Existe una diversidad de trabajos que abordan la variabilidad del comportamiento en los campos de ecología del comportamiento y ecología evolutiva. Muchos de estos trabajos hacen uso de términos como plasticidad o flexibilidad del comportamiento (e.g. Badyaev 2005; Gross, Pasinelli & Kunc 2010). Dada la ubicuidad de su uso, se tendería a pensar que se trata que terminología bien definida dentro de un marco teórico explícito (ver por ejemplo Snell-Rood 2013 en número especial sobre “Plasticidad del comportamiento y evolución” en la revista *Animal Behaviour*). Sin embargo, bajo estos términos se pueden encontrar trabajos que refieren a variación en diversos niveles taxonómicos (i.e. entre especies, poblaciones, individuos y a nivel intraindividual), que se expresa en diferentes contextos ambientales (Danielson-François *et al.* 2005; May-Collado & Wartzok 2008; Kirschel *et al.* 2009; Lowry *et al.* 2012).

La plasticidad fenotípica, definida como la propiedad de un genotipo dado de producir diferentes fenotipos en respuesta a diferentes condiciones ambientales (sensu Pigliucci 2001), tiene un desarrollo teórico y metodológico robusto, y que es aplicable a cualquier rasgo del fenotipo de un individuo (Schlichting & Pigliucci 1998; Pigliucci 2001; DeWitt & Scheiner 2004a). A pesar del rol central que puede tener la existencia de plasticidad en el comportamiento como primera respuesta a cambios en el ambiente, la plasticidad del

comportamiento continúa siendo un paraguas para estudios diversos, que muchas veces no refieren necesariamente a plasticidad (Slabbekoorn & den Boer-Visser 2006; Wood & Yezerinac 2006; Wund 2006). El problema de una caracterización pobre de un tema importante trasciende un deseo de ser meticuloso en el uso de jerga. Las implicancias ecológicas y evolutivas de la existencia de plasticidad en contraposición a fenotipos adaptados a ambientes alternativos (por ejemplo, cuando se realizan comparaciones fenotípicas entre poblaciones, Slabbekoorn & den Boer-Visser 2006; Hu & Cardoso 2010), son muy diferentes. Por otra parte, el crecimiento del área de plasticidad del comportamiento en forma paralela e independiente de otros estudios de plasticidad fenotípica favorece la creación de terminología redundante (Japyassú & Malange 2014; Cleasby *et al.* 2015) que, adicionalmente, tiende a generar un uso confuso en relación a otros fenómenos vinculados a la variabilidad intraindividual (e.g. estudios de personalidad y consistencia en el comportamiento animal; Japyassú & Malange 2014; Cleasby *et al.* 2015).

Plasticidad, ambiente y percepción

Los estudios que reportan plasticidad a través de la exploración experimental de la norma de reacción, normalmente utilizan dos o más valores correspondientes al factor ambiental (principal) que propone como causa de la plasticidad (Pigliucci 2001). Este tipo de diseño implica identificar valores del ambiente como variable independiente que tengan sentido biológico, y que además sean distinguibles como tales desde la percepción del organismo (Munoz & Blumstein 2012; Robertson, Rehage & Sih 2013).

En el Capítulo 3 se abordó el estudio de la plasticidad en el canto en respuesta a las características de atenuación del ambiente, utilizando como punto de partida las predicciones de la Hipótesis de Adaptación Acústica. Si bien los resultados obtenidos con el tratamiento de baja atenuación son congruentes con la existencia de plasticidad para maximizar la propagación de la señal, se detectan incongruencias entre la respuesta esperada y obtenida para el tratamiento de atenuación alta y el que se esperaba actuara como un control de procedimiento.

Es interesante resaltar que otro estudio reciente, también en una especie de anuro (Hanna *et al.* 2014), implementó un diseño conceptualmente muy similar (aunque con ruido ambiente como factor) al utilizado en el Capítulo 3, obteniendo el mismo tipo de respuestas a las reportadas en esta tesis, congruentes en parte con una maximización de la propagación de la señal, pero con ajustes en respuesta a los tratamientos que precisan de explicaciones adicionales. Estos resultados potencialmente señalan la existencia de otros factores en el ambiente a los que los organismos pueden estar respondiendo, ajustando el canto de forma plástica. En este sentido la percepción del ambiente por parte de los mismos estaría jugando un rol importante y podría afectar la interpretación que los investigadores estamos haciendo del origen evolutivo de las respuestas observadas. Específicamente, en el Capítulo 3 el tratamiento de alta atenuación fue pensado como una importante atenuación de la señal emitida. Mientras que el organismo puede estar interpretando el cambio inducido por este tratamiento como ausencia de competencia por otros machos, puede también, y por ende, ser una fuente sonora particularmente conspicua para los depredadores. Existe creciente evidencia de la significancia que tiene incluir el efecto de la percepción de los organismos en nuestra comprensión de los patrones y procesos biológicos (percepción de depredadores, Lima & Dill 1990; Dangles *et al.* 2005; percepción del paisaje acústico, Moss & Surlykke 2010; contexto social y esfuerzo de cópula, Lizé *et al.* 2011; incertidumbre ambiental e integración de claves, Munoz & Blumstein 2012; percepción y trampas evolutivas, Robertson, Rehage & Sih 2013; predicción de efectos poblacionales, características del hábitat y estructura de metacomunidades, Borthagaray, Arim & Marquet 2012, 2014). Por tanto, este aspecto del comportamiento animal debería ser considerado en futuros estudios que exploren la respuesta (plástica) al ambiente, cambiando el pensamiento “tipológico” sobre la relación del organismo con su ambiente (Van Dyck 2012; Greggor *et al.* 2014).

La plasticidad como atributo contexto-dependiente

Más allá de la existencia de potenciales claves en el ambiente (riesgo de predación, contexto social) no evaluadas directamente en esta tesis, en los

Capítulos 3 y 4 se constató el efecto de la condición corporal tanto en la plasticidad del canto, como en el escalamiento de sus atributos. Estas dos líneas de trabajo presentan evidencia a favor de la plasticidad en las señales acústicas como rasgo condición- o estado-dependiente (Mathot *et al.* 2011; Rohmann & Bass 2011; Dingemanse & Wolf 2013). El grado de plasticidad depende entonces del estado del individuo, definido como aquellos atributos del organismo que afectan la relación costo-beneficio de ser plásticos (McNamara & Houston 1996, 2008; Houston & McNamara 1999; Clark & Mangel 2000; Dall *et al.* 2005). De acuerdo a los resultados aquí presentados, las diferencias en el nivel de plasticidad de cada individuo serían el resultado de una respuesta ajustada según la variable de estado o condición. Ejemplos de plasticidad fenotípica estado-dependiente en el comportamiento se han reportado para asignación reproductiva (Schwanz 2008), variación en rasgos asociados a exploración y exposición a riesgos (Nicolaus *et al.* 2012; Mathot *et al.* 2014), y vigilancia y respuesta de escape (Mathot *et al.* 2011), por lo que este parece ser el primer reporte de plasticidad en comunicación animal dependiente del estado fisiológico de los organismos.

Atributos del canto y metabolismo

Las señales acústicas, particularmente en los anuros, han sido ampliamente estudiadas en cuanto a su costo metabólico en diferentes especies (ver revisiones en Pough *et al.* 1992; Wells 2001, 2007; Hillman *et al.* 2009). De igual forma, existen numerosos trabajos que exploran la relación entre los atributos del canto y el tamaño corporal (i.e. peso o largo hocico-cloaca), la temperatura y muy en menor medida, la condición corporal (ver revisión en el Capítulo 4, Tabla 4.2, y referencias en Apéndice I). Sin embargo, sólo recientemente se abordó la integración de estos dos cuerpos de evidencia estableciendo relaciones cuantitativas entre el tamaño corporal y la temperatura, y las características de las señales acústicas en especies de los principales taxa vocalmente activos (Gillooly & Ophir 2010). El Capítulo 4 es el primer trabajo en aborda el escalamiento intraespecífico de señales acústicas, con respecto a tamaño corporal y temperatura ambiente, y también el primero en incluir la condición corporal como un factor clave en el análisis de las restricciones

energéticas en los atributos del canto a este nivel de análisis. Uno de los resultados más interesantes fue el hallazgo de un efecto significativo de la interacción entre la condición corporal y la temperatura, y en menor medida con la masa, con varios de los atributos del canto analizados. Como se discutió en el Capítulo 4, la ubicuidad de estas interacciones genera un puente entre los atributos del canto, su plasticidad y ésta en dependencia con el contexto y el estado del organismo. En esta tesis no se evaluó de manera directa el costo metabólico (i.e. consumo de oxígeno) de la plasticidad en el canto. Sin embargo, los resultados obtenidos en esta tesis hacen pensar que con un diseño experimental adecuado sería factible medir en forma directa el costo energético de ajustar el canto en función de las características del ambiente, un aspecto del costo total (*fitness*) de la plasticidad que aún no se ha medido experimentalmente.

Comentarios finales

En esta tesis se planteó poner a prueba el efecto de factores endógenos (tamaño corporal y/o morfología) sobre los atributos del canto de anuncio de *H. pulchellus*. Adicionalmente, se evaluó cómo estos factores limitantes interactúan con la capacidad de modular la señal frente a variaciones en las características de propagación del medio y con el costo en términos energéticos de dicha modulación. De la caracterización de la norma de reacción (Objetivo específico 2) se desprende que la respuesta no solo es compleja (no-lineal) en cuanto al gradiente ambiental, sino que la condición del individuo afecta significativamente la expresión de flexibilidad, como se esperaba a partir de la hipótesis. Muestra además la importancia que una aproximación explícita desde el marco de la plasticidad ofrece herramientas cuantitativas y de integración con otros aspectos de la biología de los organismos (Capítulo 2 y Objetivo específico 1). Por último, los resultados obtenidos en el Capítulo 4 remarcan la importancia del tamaño corporal, o las relaciones alométricas en general, en conjunto con la temperatura como determinantes clave en la estructura de las señales acústicas (Objetivo específico 3). Asimismo, complementan y refuerzan los resultados del Capítulo 3, dada la ubicuidad del efecto de la condición corporal, particularmente

en interacción con la temperatura y la masa corporal, en determinar la estructura del canto (Objetivo específico 2).

El estudio de la plasticidad representa un área fructífera para integrar los ajustes fenotípicos de los organismos y sus efectos desde la escala ecológica (comportamiento, fisiología, morfología y características de historias de vida, Miner *et al.* 2005) a la evolutiva (adaptación y especiación, Fordyce 2006b; Price 2006). El creciente interés en la variabilidad intraindividual del comportamiento como forma más inmediata de respuesta de los organismos a su ambiente ha jerarquizado este aspecto del fenotipo como operador de cambios en las escalas antes mencionadas (Nussey *et al.* 2007; Dingemanse *et al.* 2010; Dingemanse & Dochtermann 2013). En particular, el uso de las señales acústicas como modelo de estudio representa un aporte en este sentido. Esta tesis integra la comunicación al conjunto de rasgos fenotípicos cuya variación intraindividual, en interacción con aspectos fisiológicos y ambientales, son parte central que une el desempeño con la eficacia de los organismos.

REFERENCIAS

- Abrams, P.A. (2010) Implications of flexible foraging for interspecific interactions: lessons from simple models. *Functional Ecology*, **24**, 7–17.
- Agrawal, A.A. (2001) Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species. *Science*, **294**, 321–326.
- Allen, A.P. & Gillooly, J.F. (2007) The mechanistic basis of the metabolic theory of ecology. *Oikos*, **116**, 1073–1077.
- Alonso-Alvarez, C. & Galván, I. (2011) Free radical exposure creates paler carotenoid-based ornaments: a possible interaction in the expression of black and red traits. *PLoS One*, **6**, e19403.
- Amorim, M.C.P. (2006) Diversity of sound production in fish. *Communication in fishes* pp. 71–104.
- Amorim, M.C.P., Simões, J.M., Almada, V.C. & Fonseca, P.J. (2011) Stereotypy and variation of the mating call in the Lusitanian toadfish, *Halobatrachus didactylus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **65**, 707–716.
- Amorim, M.C.P., Vasconcelos, R.O., Marques, J.F. & Almada, F. (2006) Seasonal variation of sound production in the Lusitanian toadfish *Halobatrachus didactylus*. *Journal of Fish Biology*, **69**, 1892–1899.
- Andersson, M.B. (1994) *Sexual Selection*. Princeton University Press.
- Angilletta, M.J. (2009) *Thermal Adaptation: A Theoretical and Empirical Synthesis*. Oxford University Press.
- Angilletta, M.J., Steury, T.D. & Sears, M.W. (2004) Temperature, growth rate, and body size in ectotherms: fitting pieces of a life-history puzzle. *Integrative and Comparative Biology*, **44**, 498–509.
- Angilletta, M.J., Wilson, R.S., Navas, C.A. & James, R.S. (2003) Tradeoffs and the evolution of thermal reaction norms. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 234–240.
- Ardia, D.R. (2005) Super size me: an experimental test of the factors affecting lipid content and the ability of residual body mass to predict lipid stores in nestling European Starlings. *Functional Ecology*, **19**, 414–420.
- Audacity Development Team. (2014) *Audacity Free Audio Editor and Recorder [Computer Program]*.

- Auld, J.R., Agrawal, A.A. & Relyea, R.A. (2010) Re-evaluating the costs and limits of adaptive phenotypic plasticity. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **277**, 503–511.
- Badyaev, A.V. (2005) Stress-induced variation in evolution: from behavioural plasticity to genetic assimilation. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **272**, 877–886.
- Barber, J.R., Crooks, K.R. & Fristrup, K.M. (2010) The costs of chronic noise exposure for terrestrial organisms. *Trends in Ecology & Evolution*, **25**, 180–189.
- Barnosky, A.D., Hadly, E.A., Bascompte, J., Berlow, E.L., Brown, J.H., Fortelius, M., Getz, W.M., Harte, J., Hastings, A., Marquet, P.A. & others. (2012) Approaching a state shift in Earth's biosphere. *Nature*, **486**, 52–58.
- Bauchinger, U. & Biebach, H. (2005) Phenotypic flexibility of skeletal muscles during long-distance migration of arden warblers: muscle changes are differentially related to body mass. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **1046**, 271–281.
- Bayly, K.L. & Evans, C.S. (2003) Dynamic changes in alarm call structure: a strategy for reducing conspicuousness to avian predators? *Behaviour*, **140**, 353–369.
- Bee, M.A. (2003) Experience-based plasticity of acoustically evoked aggression in a territorial frog. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, **189**, 485–496.
- Bélisle, M. (2005) Measuring landscape connectivity: the challenge of behavioral landscape ecology. *Ecology*, **86**, 1988–1995.
- Bennet-Clark, H.C. & Daws, A.G. (1999) Transduction of mechanical energy into sound energy in the cicada *Cyclochila australasiae*. *Journal of Experimental Biology*, **202**, 1803–1817.
- Bennington, C.C. & Thyane, W.V. (1994) Use and misuse of mixed model analysis of variance in ecological studies. *Ecology*, **75**, 717–722.
- Berger, D., Olofsson, M., Friberg, M., Karlsson, B., Wiklund, C. & Gotthard, K. (2012) Intraspecific variation in body size and the rate of reproduction in female insects – adaptive allometry or biophysical constraint? *Journal of Animal Ecology*, **81**, 1244–1258.
- Bermúdez-Cuamatzin, E., Ríos-Chelén, A.A., Gil, D. & Garcia, C.M. (2011) Experimental evidence for real-time song frequency shift in response to urban noise in a passerine bird. *Biology letters*, **7**, 36–38.
- Bernal, X.E., Page, R.A., Rand, A.S. & Ryan, M.J. (2007) Cues for eavesdroppers: do frog calls indicate prey density and quality? *The American Naturalist*, **169**, 409–415.

- Bernal, X.E., Rand, A.S. & Ryan, M.J. (2006) Acoustic preferences and localization performance of blood-sucking flies (*Corethrella* Coquillett) to túngara frog calls. *Behavioral Ecology*, **17**, 709.
- Bertram, S.M., Harrison, S.J., Thomson, I.R. & Fitzsimmons, L.P. (2013) Adaptive plasticity in wild field cricket's acoustic signaling. *PloS one*, **8**, e69247.
- Bertram, S.M., Thomson, I.R., Auguste, B., Dawson, J.W. & Darveau, C.-A. (2011) Variation in cricket acoustic mate attraction signalling explained by body morphology and metabolic differences. *Animal Behaviour*, **82**, 1255–1261.
- Bevier, C.R. (1997) Breeding activity and chorus tenure of two neotropical hyliid frogs. *Herpetologica*, **53**, 297–311.
- Biro, P.A., Beckmann, C. & Stamps, J.A. (2009) Small within-day increases in temperature affects boldness and alters personality in coral reef fish. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **277**, 71–77.
- Bolnick, D.I., Amarasekare, P., Araújo, M.S., Bürger, R., Levine, J.M., Novak, M., Rudolf, V.H.W., Schreiber, S.J., Urban, M.C. & Vasseur, D.A. (2011) Why intraspecific trait variation matters in community ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, **26**, 183–192.
- Bolnick, D.I., Svanbäck, R., Fordyce, J.A., Yang, L.H., Davis, J.M., Hulse, C.D. & Forister, M.L. (2003) The ecology of individuals: incidence and implications of individual specialization. *The American Naturalist*, **161**, 1–28.
- Boncoraglio, G. & Saino, N. (2007) Habitat structure and the evolution of bird song: a meta-analysis of the evidence for the acoustic adaptation hypothesis. *Functional Ecology*, **21**, 134–142.
- Bonnet, X., Bradshaw, D. & Shine, R. (1998) Capital versus income breeding: an ectothermic perspective. *Oikos*, 333–342.
- Borthagaray, A.I., Arim, M. & Marquet, P.A. (2012) Connecting landscape structure and patterns in body size distributions. *Oikos*, **121**, 697–710.
- Borthagaray, A.I., Arim, M. & Marquet, P.A. (2014) Inferring species roles in metacommunity structure from species co-occurrence networks. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **281**, 20141425.
- Bosch, J. & Márquez, R. (1996) Acoustic competition in male midwife toads *Alytes obstetricans* and *Alytes cisternasii*: response to neighbor size and calling rate. Implications for female choice. *Ethology*, **102**, 841–855.

- Bosch, J., Rand, A.S. & Ryan, M.J. (2000) Signal variation and call preferences for whine frequency in the túngara frog, *Physalaemus pustulosus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **49**, 62–66.
- Bosch, J. & De la Riva, I. (2004) Are frog calls modulated by the environment? An analysis with anuran species from Bolivia. *Canadian Journal of Zoology*, **82**, 880–888.
- Both, C., Artemyev, A.V., Blaauw, B., Cowie, R.J., Dekhuijzen, A.J., Eeva, T., Enemar, A., Gustafsson, L., Ivankina, E.V., Järvinen, A. & others. (2004) Large-scale geographical variation confirms that climate change causes birds to lay earlier. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, **271**, 1657–1662.
- Bradbury, J.W. & Vehrencamp, S.L. (2011) *Principles of Animal Communication*, 2nd ed. Sinauer Associates.
- Brepson, L., Voituron, Y. & Lengagne, T. (2013) Condition-dependent ways to manage acoustic signals under energetic constraint in a tree frog. *Behavioral Ecology*, **24**, 488–496.
- Brown, J.H., Gilgooly, J.F., Allen, A.P., Savage, V.M. & West, G.B. (2004) Toward a metabolic theory of ecology. *Ecology*, **85**, 1771–1789.
- Bucher, T.L., Ryan, M.J. & Bartholomew, G.A. (1982) Oxygen consumption during resting, calling, and nest building in the frog *Physalaemus pustulosus*. *Physiological Zoology*, **55**, 10–22.
- Callander, S., Kahn, A.T., Hunt, J., Backwell, P.R. & Jennions, M.D. (2013) The effect of competitors on calling effort and life span in male field crickets. *Behavioral Ecology*, art059.
- Canavero, A., Arim, M., Naya, D.E., 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 Journal of Zoology*, **4**, 29–41.
- Candolin, U. (1999) The relationship between signal quality and physical condition: is sexual signalling honest in the three-spined stickleback? *Animal Behaviour*, **58**, 1261–1267.
- Careau, V. & Garland Jr, T. (2012) Performance, personality, and energetics: correlation, causation, and mechanism*. *Physiological and Biochemical Zoology*, **85**, 543–571.
- Carroll, S.P. & Corneli, P.S. (1999) The evolution of behavioral norms of reaction as a problem in ecological genetics. *Geographic variation in behavior: perspectives on evolutionary mechanisms* (ed J.A. Santa Barbara), pp. 52–68. Oxford University Press, New York, USA.

- Carvalho, J.E., Gomes, F.R. & Navas, C.A. (2008) Energy substrate utilization during nightly vocal activity in three species of *Scinax* (Anura/Hylidae). *Journal of Comparative Physiology B*, **178**, 447–456.
- Castellano, S., Zanollo, V., Marconi, V. & Berto, G. (2009) The mechanisms of sexual selection in a lek-breeding anuran, *Hyla intermedia*. *Animal Behaviour*, **77**, 213–224.
- Christie, P.J., Mennill, D.J. & Ratcliffe, L.M. (2004) Pitch shifts and song structure indicate male quality in the dawn chorus of black-capped chickadees. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **55**, 341–348.
- Clark, C.W. & Mangel, M. (2000) *Dynamic State Variable Models in Ecology: Methods and Applications*. Oxford University Press New York.
- Cleasby, I.R., Nakagawa, S. & Schielzeth, H. (2015) Quantifying the predictability of behaviour: statistical approaches for the study of between-individual variation in the within-individual variance (ed J Hadfield). *Methods in Ecology and Evolution*, **6**, 27–37.
- Cocroft, R.B. & Ryan, M.J. (1995) Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs. *Animal Behaviour*, **49**, 283–304.
- Coppens, C.M., de Boer, S.F., Koolhaas, J.M., Coppens, C.M., de Boer, S.F. & Koolhaas, J.M. (2010) Coping styles and behavioural flexibility: towards underlying mechanisms. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **365**, 4021–4028.
- Cordes, N., Schmoll, T. & Reinhold, K. (2013) Risk-taking behavior in the lesser wax moth: disentangling within-and between-individual variation. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **67**, 257–264.
- Crawley, M.J. (2007) *The R Book*. John Wiley & Sons, New York.
- Cunnington, G.M. & Fahrig, L. (2010) Plasticity in the vocalizations of anurans in response to traffic noise. *Acta Oecologica*, **36**, 463–470.
- Dall, S.R., Bell, A.M., Bolnick, D.I. & Ratnieks, F.L. (2012) An evolutionary ecology of individual differences. *Ecology letters*, **15**, 1189–1198.
- Dall, S.R., Giraldeau, L.A., Olsson, O., McNamara, J.M. & Stephens, D.W. (2005) Information and its use by animals in evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, **20**, 187–193.
- Dangles, O., Irschick, D., Chittka, L. & Casas, J. (2009) Variability in sensory ecology: expanding the bridge between physiology and evolutionary biology. *The Quarterly Review of Biology*, **84**, 51–74.

- Dangles, O., Magal, C., Pierre, D., Olivier, A. & Casas, J. (2005) Variation in morphology and performance of predator-sensing system in wild cricket populations. *The Journal of Experimental Biology*, **208**, 461–468.
- Danielson-François, A.M., Kelly, J.K. & Greenfield, M.D. (2005) Genotype X environment interaction for male attractiveness in an acoustic moth: evidence for plasticity and canalization. *Journal of evolutionary biology*, **19**, 532–542.
- David, J.R., Gibert, P. & Moreteau, B. (2003) Evolution of reaction norms. *Phenotypic plasticity: functional and conceptual approaches* pp. 50–63. Oxford University Press.
- Dell, A.I., Pawar, S. & Savage, V.M. (2011) Systematic variation in the temperature dependence of physiological and ecological traits. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **108**, 10591–10596.
- DeWitt, T.J. & Scheiner, S.M. (eds). (2004a) *Phenotypic Plasticity: Functional and Conceptual Approaches*. Oxford University Press, USA.
- DeWitt, T.J. & Scheiner, S.M. (2004b) Phenotypic variation from single genotypes: A primer. (eds T.J. DeWitt & Scheiner), Oxford University Press, New York.
- DeWitt, T.J., Sih, A. & Wilson, D.S. (1998) Costs and limits of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology & Evolution*, **13**, 77–81.
- Dillon, M.E., Wang, G. & Huey, R.B. (2010) Global metabolic impacts of recent climate warming. *Science*, **467**, 704–707.
- Dingemanse, N.J., Barber, I., Wright, J. & Brommer, J.E. (2012) Quantitative genetics of behavioural reaction norms: genetic correlations between personality and behavioural plasticity vary across stickleback populations. *Journal of Evolutionary Biology*, **25**, 485–496.
- Dingemanse, N.J., Bouwman, K.M., van de Pol, M., van Overveld, T., Patrick, S.C., Matthysen, E. & Quinn, J.L. (2011) Variation in personality and behavioural plasticity across four populations of the great tit *Parus major*. *Journal of Animal Ecology*, **81**, 116–126.
- Dingemanse, N.J. & Dochtermann, N.A. (2013) Quantifying individual variation in behaviour: mixed-effect modelling approaches. *Journal of Animal Ecology*, **82**, 39–54.
- Dingemanse, N.J., Kazem, A.J., Réale, D. & Wright, J. (2010) Behavioural reaction norms: animal personality meets individual plasticity. *Trends in Ecology & Evolution*, **25**, 81–89.

- Dingemanse, N.J. & Wolf, M. (2010) Recent models for adaptive personality differences: a review. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **365**, 3947–3958.
- Dingemanse, N.J. & Wolf, M. (2013) Between-individual differences in behavioural plasticity within populations: causes and consequences. *Animal Behaviour*, **85**, 1031–1039.
- Drewry, G.E., Heyer, W.R. & Rand, A.S. (1982) A functional analysis of the complex call of the frog *Physalaemus pustulosus*. *Copeia*, 636–645.
- Duckworth, R.A. (2009) The role of behavior in evolution: a search for mechanism. *Evolutionary Ecology*, **23**, 513–531.
- Van Dyck, H. (2012) Changing organisms in rapidly changing anthropogenic landscapes: the significance of the ‘Umwelt’-concept and functional habitat for animal conservation. *Evolutionary Applications*, **5**, 144–153.
- Egnor, S.E.R., Wickelgren, J.G. & Hauser, M.D. (2007) Tracking silence: adjusting vocal production to avoid acoustic interference. *Journal of Comparative Physiology A: Neuroethology, Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, **193**, 477–483.
- Estes, J.A., Riedman, M.L., Staedler, M.M., Tinker, M.T. & Lyon, B.E. (2003) Individual variation in prey selection by sea otters: patterns, causes and implications. *Journal of Animal Ecology*, **72**, 144–155.
- Ey, E. & Fischer, J. (2009) The ‘Acoustic Adaptation Hypothesis’ – A review of the evidence from birds, anurans and mammals. *Bioacoustics*, **19**, 21–48.
- Faivre, B., Grégoire, A., Prévault, M., Cézilly, F. & Sorci, G. (2003) Immune activation rapidly mirrored in a secondary sexual trait. *Science*, **300**, 103–103.
- Feder, M.E. (2007) Evolvability of physiological and biochemical traits: evolutionary mechanisms including and beyond single-nucleotide mutation. *Journal of Experimental Biology*, **210**, 1653–1660.
- Feder, M.E. & Burggren, W.W. (1992) *Environmental Physiology of the Amphibians*. University of Chicago Press.
- Foote, A.D., Osborne, R.W. & Hoelzel, A.R. (2004) Whale-call response to masking boat noise. *Nature*, **428**, 910–910.
- Fordyce, J.A. (2006) The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity. *Journal of Experimental Biology*, **209**, 2377–2383.
- Forrest, T.G. (1994) From sender to receiver: propagation and environmental effects on acoustic signals. *Integrative and Comparative Biology*, **34**, 644–654.

- Forsman, A. (2014) Rethinking phenotypic plasticity and its consequences for individuals, populations and species. *Heredity*.
- Foster, S.A. (2013) Evolution of behavioural phenotypes: influences of ancestry and expression. *Animal Behaviour*, **85**, 1061–1075.
- Francis, C.D., Ortega, C.P. & Cruz, A. (2011) Vocal frequency change reflects different responses to anthropogenic noise in two suboscine tyrant flycatchers. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **278**, 2025–2031.
- Froget, G., Butler, P.J., Handrich, Y. & Woakes, A.J. (2001) Heart rate as an indicator of oxygen consumption: influence of body condition in the king penguin. *Journal of Experimental Biology*, **204**, 2133–2144.
- Fuller, T., Sarkar, S. & Crews, D. (2005) The use of norms of reaction to analyze genotypic and environmental influences on behavior in mice and rats. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, **29**, 445–456.
- Gabriel, W. (2006) Selective advantage of irreversible and reversible phenotypic plasticity. *Archiv fur Hydrobiologie*, **167**, 1–20.
- Gabriel, W., Luttbeg, B., Sih, A. & Tollrian, R. (2005) Environmental tolerance, heterogeneity, and the evolution of reversible plastic responses. *The American Naturalist*, **166**, 339–353.
- Garland Jr, T. & Losos, J.B. (1994) Ecological morphology of locomotor performance in squamate reptiles. *Ecological morphology: integrative organismal biology* (eds P.C. Wainwright & S.M. Reilly), pp. 240–302. University of Chicago Press.
- Garland, T. & Kelly, S.A. (2006) Phenotypic plasticity and experimental evolution. *Journal of Experimental Biology*, **209**, 2344–2361.
- Gerhardt, H.C. (1991) Female mate choice in treefrogs: static and dynamic acoustic criteria. *Animal Behaviour*, **42**, 615–635.
- Gerhardt, H.C. (1994) The evolution of vocalization in frogs and toads. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **25**, 293–324.
- Gerhardt, H.C. & Huber, F. (2002) *Acoustic Communication in Insects and Anurans: Common Problems and Diverse Solutions*. The University of Chicago Press, Chicago.
- Ghalambor, C.K., Angeloni, L.M. & Carroll, S.P. (2010) Behavior as phenotypic plasticity. *Evolutionary Behavioral Ecology*. Westneat D. F., Fox C. W. (Eds) pp. 90–107. Oxford University Press, Oxford.
- Gillooly, J.F., Brown, J.H., West, G.B., Savage, V.M. & Charnov, E.L. (2001) Effects of size and temperature on metabolic rate. *Science*, **293**, 2248–2251.

- Gillooly, J.F. & Ophir, A.G. (2010) The energetic basis of acoustic communication. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **277**, 1325–1331.
- Ginzburg, L. & Damuth, J. (2008) The space-lifetime hypothesis: Viewing organisms in four dimensions, literally. *The American Naturalist*, **171**, 125–131.
- Glazier, D.S. (2005) Beyond the '3/4-power law': variation in the intra-and interspecific scaling of metabolic rate in animals. *Biological Reviews*, **80**, 611–662.
- Glazier, D.S. (2006) The 3/4-power law is not universal: evolution of isometric, ontogenetic metabolic scaling in pelagic animals. *BioScience*, **56**, 325–332.
- Glazier, D.S. (2009) Activity affects intraspecific body-size scaling of metabolic rate in ectothermic animals. *Journal of Comparative Physiology B*, **179**, 821–828.
- Glazier, D.S. (2010) A unifying explanation for diverse metabolic scaling in animals and plants. *Biological Reviews*, **85**, 111–138.
- Grafe, T.U. (1996) The function of call alternation in the African reed frog (*Hyperolius marmoratus*): precise call timing prevents auditory masking. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **38**, 149–158.
- Grafe, T.U. & Thein, J. (2001) Energetics of calling and metabolic substrate use during prolonged exercise in the European treefrog *Hyla arborea*. *Journal of Comparative Physiology B*, **171**, 69–76.
- Grafen, A. (1990) Biological signals as handicaps. *Journal of Theoretical Biology*, **144**, 517–546.
- Green, A.J. (1990) Determinants of chorus participation and the effects of size, weight and competition on advertisement calling in the tungara frog, *Physalaemus pustulosus* (Leptodactylidae). *Animal Behaviour*, **39**, 620–638.
- Greenfield, M.D. & Baker, M. (2003) Bat avoidance in non-aerial insects: the silence response of signaling males in an acoustic moth. *Ethology*, **109**, 427–442.
- Greggor, A.L., Clayton, N.S., Phalan, B. & Thornton, A. (2014) Comparative cognition for conservationists. *Trends in ecology & evolution*, **29**, 489–495.
- Griebel, U. & Oller, D.K. (2008) Evolutionary forces favoring communicative flexibility. *Evolution of communicative flexibility: Complexity, creativity, and adaptability in human and animal communication* pp. 9–40.
- Gross, K., Pasinelli, G. & Kunc, H.P. (2010) Behavioral plasticity allows short-term adjustment to a novel environment. *The American Naturalist*, **176**, 456–464.
- Haila, Y. & Järvinen, O. (1982) The role of theoretical concepts in understanding the ecological theatre: a case study on island biogeography. *Conceptual issues in ecology* (ed D. Reidel), pp. 261–278. Dordrecht, The Netherlands.

- Halfwerk, W. & Slabbekoorn, H. (2009) A behavioural mechanism explaining noise-dependent frequency use in urban birdsong. *Animal behaviour*, **78**, 1301–1307.
- Hall, M.L., Molles, L.E., Illes, A.E. & Vehrencamp, S.L. (2009) Singing in the face of death: male banded wrens *Thryophilus pleurostictus* sing more to playback in their last breeding season. *Journal of Avian Biology*, **40**, 217–224.
- Hanna, D., Blouin-Demers, G., Wilson, D.R. & Mennill, D.J. (2011) Anthropogenic noise affects song structure in red-winged blackbirds (*Agelaius phoeniceus*). *Journal of Experimental Biology*, **214**, 3549–3556.
- Hanna, D.E., Wilson, D.R., Blouin-Demers, G. & Mennill, D.J. (2014) Spring peepers *Pseudacris crucifer* modify their call structure in response to noise. *Current Zoology*, **60**, 438–448.
- Hansen, P. (1979) Vocal learning: Its role in adapting sound structures to long-distance propagation, and a hypothesis on its evolution. *Animal Behaviour*, **27**, 1270–1271.
- Harrison, S.J., Thomson, I.R., Grant, C.M. & Bertram, S.M. (2013) Calling, courtship, and condition in the fall field cricket, *Gryllus pennsylvanicus*. *PloS one*, **8**, e60356.
- Hayes, J.P. & Garland Jr, T. (1995) The evolution of endothermy: testing the aerobic capacity model. *Evolution*, **836–847**.
- Hayward, A., Gillooly, J.F. & Kodric-Brown, A. (2012) Behavior. *Metabolic ecology: A scaling approach* (eds R.M. Sibly, J.H. Brown & A. Kodric-Brown), pp. 67–76.
- Head, A.W., Hardin, J.S. & Adolph, S.C. (2012) Methods for estimating peak physiological performance and correlating performance measures. *Environmental and Ecological Statistics*, **19**, 127–137.
- Hempleman, S.C., Kilgore, D.L., Colby, C., Bavis, R.W. & Powell, F.L. (2005) Spike firing allometry in avian intrapulmonary chemoreceptors: matching neural code to body size. *Journal of Experimental Biology*, **208**, 3065–3073.
- Hill, G.E. (2011) Condition-dependent traits as signals of the functionality of vital cellular processes. *Ecology Letters*, **14**, 625–634.
- Hill, G.E. (2014) Cellular respiration: the nexus of stress, condition, and ornamentation. *Integrative and Comparative Biology*, **54**, 645–657.
- Hill, G.E., Doucet, S.M. & Buchholz, R. (2005) The effect of coccidial infection on iridescent plumage coloration in wild turkeys. *Animal Behaviour*, **69**, 387–394.
- Hillman, S.S., Withers, P.C., Drewes, R.C. & Hillyard, S.D. (2009) *Ecological and Environmental Physiology of Amphibians*. Oxford University Press New York.

- Hoeschele, M., Moscicki, M.K., Otter, K.A., van Oort, H., Fort, K.T., Farrell, T.M., Lee, H., Robson, S.W. & Sturdy, C.B. (2010) Dominance signalled in an acoustic ornament. *Animal Behaviour*, **79**, 657–664.
- Houston, A. & McNamara, J.M. (1999) *Models of Adaptive Behaviour*. Cambridge University Press.
- Hu, Y. & Cardoso, G.C. (2010) Which birds adjust the frequency of vocalizations in urban noise? *Animal Behaviour*, **79**, 863–867.
- Huey, R.B. & Tewksbury, J.J. (2009) Can behaviour dose the fire of climate warming? *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **106**, 3647–3648.
- Humfeld, S.C. (2013) Condition-dependent signaling and adoption of mating tactics in an amphibian with energetic displays. *Behavioral Ecology*, **24**, 859–870.
- Husby, A., Nussey, D.H., Visser, M.E., Wilson, A.J., Sheldon, B.C. & Kruuk, L.E.B. (2010) Contrasting patterns of phenotypic plasticity in reproductive traits in two great tit (*Parus major*) populations. *Evolution*, **64**, 2221–2237.
- Ingram, T., Harmon, L.J. & Shurin, J.B. (2009) Niche evolution, trophic structure, and species turnover in model food webs. *The American Naturalist*, **174**, 56–67.
- Irlich, U.M., Terblanche, J.S., Blackburn, T.M. & Chown, S.L. (2009) Insect rate-temperature relationships: environmental variation and the metabolic theory of ecology. *The American Naturalist*, **174**, 819–835.
- Irschick, D.J., Herrel, A., Vanhooydonck, B. & Damme, R.V. (2007) A functional approach to sexual selection. *Functional Ecology*, **21**, 621–626.
- Ives, A.R., Midford, P.E. & Garland Jr, T. (2007) Within-species variation and measurement error in phylogenetic comparative methods. *Systematic Biology*, **56**, 252–270.
- Jakob, E.M., Marshall, S.D. & Uetz, G.W. (1996) Estimating fitness: a comparison of body condition indices. *Oikos*, 61–67.
- Jang, Y. (2011) Male responses to conspecific advertisement signals in the field cricket *Gryllus rubens* (Orthoptera: Gryllidae). *PLoS ONE*, **6**, e16063.
- Japyassú, H.F. & Caires, R.A. (2008) Hunting tactics in a cobweb spider (Araneae-Theridiidae) and the evolution of behavioral plasticity. *Journal of Insect Behavior*, **21**, 258–284.
- Japyassú, H.F. & Malange, J. (2014) Plasticity, stereotypy, intra-individual variability and personality: Handle with care. *Behavioral Processes*, **109**, 40–47.

- Jokela, J. & Mutikainen, P. (1995) Phenotypic plasticity and priority rules for energy allocation in a freshwater clam: a field experiment. *Oecologia*, **104**, 122–132.
- Judge, K.A., Ting, J.J. & Gwynne, D.T. (2008) Condition dependence of male life span and calling effort in a field cricket. *Evolution*, **62**, 868–878.
- Karasov, W.H. (1986) Energetics, physiology and vertebrate ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, **1**, 101–104.
- Karasov, W.H. & Martínez del Rio, C. (2007) *Physiological Ecology: How Animals Process Energy, Nutrients, and Toxins*. Princeton University Press, Princeton, NJ [etc.].
- Kaufman, S.D., Johnston, T.A., Leggett, W.C., Moles, M.D., Casselman, J.M. & Schulte-Hostedde, A.I. (2007) Relationships between body condition indices and proximate composition in adult walleyes. *Transactions of the American Fisheries Society*, **136**, 1566–1576.
- Kight, C.R. & Swaddle, J.P. (2011) How and why environmental noise impacts animals: an integrative, mechanistic review. *Ecology Letters*, 1052–1061.
- Killen, S.S., Atkinson, D. & Glazier, D.S. (2010) The intraspecific scaling of metabolic rate with body mass in fishes depends on lifestyle and temperature. *Ecology Letters*, **13**, 184–193.
- Kime, N.M., Burmeister, S.S. & Ryan, M.J. (2004) Female preferences for socially variable call characters in the cricket frog, *Acris crepitans*. *Animal behaviour*, **68**, 1391–1399.
- Kime, N.M., Turner, W.R. & Ryan, M.J. (2000) The transmission of advertisement calls in Central American frogs. *Behavioral Ecology*, **11**, 71.
- Kirschel, A.N.G., Blumstein, D.T., Cohen, R.E., Buermann, W., Smith, T.B. & Slabbekoorn, H. (2009) Birdsong tuned to the environment: green hylia song varies with elevation, tree cover, and noise. *Behavioral Ecology*, **20**, 1089–1095.
- Kiss, A.C., de Carvalho, J.E., Navas, C.A. & Gomes, F.R. (2009) Seasonal metabolic changes in a year-round reproductively active subtropical tree-frog (*Hypsiboas prasinus*). *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, **152**, 182–188.
- Koda, H. (2004) Flexibility and context-sensitivity during the vocal exchange of coo calls in wild Japanese macaques (*Macaca fuscata yakui*). *Behaviour*, **141**, 1279–1296.
- Kokko, H., Brooks, R., McNamara, J.M. & Houston, A.I. (2002) The sexual selection continuum. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **269**, 1331–1340.
- Kotiaho, J.S. (2001) Costs of sexual traits: a mismatch between theoretical considerations and empirical evidence. *Biological Reviews*, **76**, 365–376.

- Laiolo, P. (2010) The emerging significance of bioacoustics in animal species conservation. *Biological Conservation*, **143**, 1635–1645.
- Laiolo, P. & Tella, J.L. (2008) Social determinants of songbird vocal activity and implications for the persistence of small populations. *Animal Conservation*, **11**, 433–441.
- Lande, R. (2009) Adaptation to an extraordinary environment by evolution of phenotypic plasticity and genetic assimilation. *Journal of Evolutionary Biology*, **22**, 1435–1446.
- Lardner, B. & bin Lakim, M. (2002) Tree-hole frogs exploit resonance effects. *Nature*, **420**, 475.
- Laubach, Z.M., Blumstein, D.T., Romero, L.M., Sampson, G. & Foufopoulos, J. (2013) Are white-crowned sparrow badges reliable signals? *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **67**, 481–492.
- Lesbarrères, D. & Lodé, T. (2002) Variations in male calls and responses to an unfamiliar advertisement call in a territorial breeding anuran, *Rana dalmatina*: evidence for a ‘dear enemy’ effect. *Ethology Ecology & Evolution*, **14**, 287–295.
- Levitan, D.R. (1989) Density-dependent size regulation in *Diadema antillarum*: effects on fecundity and survivorship. *Ecology*, 1414–1424.
- Lewontin, R.C. (1970) The units of selection. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **1**, 1–18.
- Lima, S.L. & Dill, L.M. (1990) Behavioral decisions made under the risk of predation: a review and prospectus. *Canadian Journal of Zoology*, **68**, 619–640.
- Lindenmayer, D.B., Likens, G.E., Krebs, C.J. & Hobbs, R.J. (2010) Improved probability of detection of ecological ‘surprises’. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107**, 21957–21962.
- Lizé, A., Doff, R.J., Smaller, E.A., Lewis, Z. & Hurst, G.D. (2011) Perception of male–male competition influences *Drosophila* copulation behaviour even in species where females rarely remate. *Biology Letters*, rsbl20110544.
- Lloyd-Smith, J.O., Schreiber, S.J., Kopp, P.E. & Getz, W.M. (2005) Superspreading and the effect of individual variation on disease emergence. *Nature*, **438**, 355–359.
- Llusia, D., Gómez, M., Penna, M. & Márquez, R. (2013a) Call transmission efficiency in native and invasive anurans: competing hypotheses of divergence in acoustic signals. *PloS One*, **8**, e77312.
- Llusia, D., Márquez, R., Beltrán, J.F., Benitez, M. & Do Amaral, J.P. (2013b) Calling behaviour under climate change: geographical and seasonal variation of calling temperatures in ectotherms. *Global Change Biology*, **19**, 2655–2674.

- Lobel, P.S. (2002) Diversity of fish spawning sounds and the application of passive acoustic monitoring. *Bioacoustics*, **12**, 286–289.
- Locatello, L., Rasotto, M.B., Evans, J.P. & Pilastro, A. (2006) Colourful male guppies produce faster and more viable sperm. *Journal of Evolutionary Biology*, **19**, 1595–1602.
- Lowry, H., Lill, A. & Wong, B.B.M. (2012) How noisy does a noisy miner have to be? Amplitude adjustments of alarm calls in an avian urban ‘adapter’. *PloS ONE*, **7**, e29960.
- Lumpkin, D.C., Murphy, T.G. & Tarvin, K.A. (2014) Blood parasite infection differentially relates to carotenoid-based plumage and bill color in the American goldfinch. *Ecology and evolution*, **4**, 3210–3217.
- Luo, L.-G., Ding, G.-H. & Ji, X. (2010) Income breeding and temperature-induced plasticity in reproductive traits in lizards. *Journal of Experimental Biology*, **213**, 2073–2078.
- Luttbeg, B. & Schmitz, O.J. (2000) Predator and prey models with flexible individual behavior and imperfect information. *The American Naturalist*, **155**, 669–683.
- Mac Nally, R.C. (1984) On the reproductive energetics of chorusing males: costs and patterns of call production in two sympatric species of *Ranidella* (Anura). *Oikos*, **82**–91.
- Marquet, P.A., Allen, A.P., Brown, J.H., Dunne, J.A., Enquist, B.J., Gillooly, J.F., Gowaty, P.A., Green, J.L., Harte, J., Hubbell, S.P., O’Dwyer, J., Okie, J.G., Ostling, A., Ritchie, M.E., Storch, D. & West, G.B. (2014) On theory in ecology. *BioScience*, **64**, 701–710.
- Martin, J.G., Nussey, D.H., Wilson, A.J. & Reale, D. (2011) Measuring individual differences in reaction norms in field and experimental studies: a power analysis of random regression models. *Methods in Ecology and Evolution*, **2**, 362–374.
- Mathot, K.J., van den Hout, P.J., Piersma, T., Kempenaers, B., Réale, D. & Dingemanse, N.J. (2011) Disentangling the roles of frequency-vs. state-dependence in generating individual differences in behavioural plasticity. *Ecology Letters*, **14**, 1254–1262.
- Mathot, K.J., Nicolaus, M., Araya-Ajoy, Y.G., Dingemanse, N.J. & Kempenaers, B. (2015) Does metabolic rate predict risk-taking behaviour? A field experiment in a wild passerine bird. *Functional Ecology*, **29**, 239–249.
- Mathot, K.J., Wright, J., Kempenaers, B. & Dingemanse, N.J. (2012) Adaptive strategies for managing uncertainty may explain personality-related differences in behavioural plasticity. *Oikos*, **121**, 1009–1020.

- May-Collado, L.J. & Wartzok, D. (2008) A comparison of bottlenose dolphin whistles in the Atlantic Ocean: factors promoting whistle variation. *Journal of Mammalogy*, **89**, 1229–1240.
- Maynard Smith, J. & Harper, D. (2003) *Animal Signals*. Oxford University Press, New York, NY, USA.
- Mayr, E. (1963) *Animal Species and Evolution*. Belknap Press of Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts.
- McCauley, S.J., Bouchard, S.S., Farina, B.J., Isvaran, K., Quader, S., Wood, D.W. & Mary, C.M.S. (2000) Energetic dynamics and anuran breeding phenology: insights from a dynamic game. *Behavioral Ecology*, **11**, 429–436.
- McClelland, B.E., Wilczynski, W. & Ryan, M.J. (1996) Correlations between call characteristics and morphology in male cricket frogs (*Acris crepitans*). *Journal of Experimental Biology*, **199**, 1907–1919.
- McGhee, K.E., Pintor, L.M. & Bell, A.M. (2013) Reciprocal behavioral plasticity and behavioral types during predator-prey interactions. *The American Naturalist*, **182**, 704.
- McLeod, A.I. & Xu, C. (2011) *Bestglm: Best Subset GLM. R Package*.
- McLister, J.D. (2001) Physical factors affecting the cost and efficiency of sound production in the treefrog *Hyla versicolor*. *Journal of Experimental Biology*, **204**, 69–80.
- McNab, B.K. (2002) *The Physiological Ecology of Vertebrates: A View from Energetics*. Comstock Pub Assoc, Cornell University Press, Ithaca.
- McNamara, J.M. & Houston, A.I. (1996) State-dependent life histories. *Nature*, **380**, 215–221.
- McNamara, J.M. & Houston, A.I. (2008) Optimal annual routines: behaviour in the context of physiology and ecology. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **363**, 301–319.
- Medina, I. & Francis, C.D. (2012) Environmental variability and acoustic signals: a multi-level approach in songbirds. *Biology Letters*, **8**, 928–931.
- Mendes, S., Colino-Rabanal, V.J. & Peris, S.J. (2011) Bird song variations along an urban gradient: The case of the European blackbird (*Turdus merula*). *Landscape and Urban Planning*, **99**, 51–57.
- Miller, P.J.O., Biassoni, N., Samuels, A. & Tyack, P.L. (2000) Whale songs lengthen in response to sonar. *Nature*, **405**, 903.
- Miner, B.G., Sultan, S.E., Morgan, S.G., Padilla, D.K. & Relyea, R.A. (2005) Ecological consequences of phenotypic plasticity. *Trends in Ecology & Evolution*, **20**, 685–692.

- Mitchell, N.J. (2001) Males call more from wetter nests: effects of substrate water potential on reproductive behaviours of terrestrial toadlets. *Proceedings of the Royal Society of London B*, **268**, 87–93.
- Mockford, E.J. & Marshall, R.C. (2009) Effects of urban noise on song and response behaviour in great tits. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **276**, 2979–2985.
- Molina-Montenegro, M.A. & Naya, D.E. (2012) Latitudinal patterns in phenotypic plasticity and fitness-related traits: assessing the climatic variability hypothesis (CVH) with an invasive plant species. *PLoS ONE*, **7**, e47620.
- Mollet, F.M., Ernande, B., Brunel, T. & Rijnsdorp, A.D. (2010) Multiple growth-correlated life history traits estimated simultaneously in individuals. *Oikos*, **119**, 10–26.
- Montague, M.J., Danek-Gontard, M. & Kunc, H.P. (2013) Phenotypic plasticity affects the response of a sexually selected trait to anthropogenic noise. *Behavioral Ecology*, **24**, 343–348.
- Moore, I.T. & Hopkins, W.A. (2009) Interactions and trade-offs among physiological determinants of performance and reproductive success. *Integrative and Comparative Biology*, **49**, 441–451.
- Morrison, C., Hero, J.-M. & Smith, W.P. (2001) Mate selection in *Litoria chloris* and *Litoria xanthomera*: females prefer smaller males. *Austral Ecology*, **26**, 223–232.
- Morton, E.S. (1975) Ecological sources of selection on avian sounds. *The American Naturalist*, **109**, 17.
- Moses, M.E., Hou, C., Woodruff, W.H., West, G.B., Nekola, J.C., Zuo, W. & Brown, J.H. (2008) Revisiting a model of ontogenetic growth: estimating model parameters from theory and data. *The American Naturalist*, **171**, 632–645.
- Moss, C.F. & Surlykke, A. (2010) Probing the natural scene by echolocation in bats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, **4**, 1–16.
- Mougeot, F. & Bretagnolle, V. (2000) Predation as a cost of sexual communication in nocturnal seabirds: an experimental approach using acoustic signals. *Animal Behaviour*, **60**, 647–656.
- Munoz, N.E. & Blumstein, D.T. (2012) Multisensory perception in uncertain environments. *Behavioral Ecology*, **23**, 457–462.
- Narins, P.M., Feng, A.S., Fay, R.R. & Popper, A.N. (eds). (2007) *Hearing and Sound Communication in Amphibians*. Springer Verlag, New York.

- Naya, D.E., Karasov, W.H. & Bozinovic, F. (2007) Phenotypic plasticity in laboratory mice and rats: a meta-analysis of current ideas on gut size flexibility. *Evolutionary Ecology Research*, **9**, 1363-1374.
- Nee, S., Read, A.F., Greenwood, J.J.D. & Harvey, P.H. (1991) The relationship between abundance and body size in British birds. *Nature*, **351**, 312-313.
- Nicolaus, M., Tinbergen, J.M., Bouwman, K.M., Michler, S.P.M., Ubels, R., Both, C., Kempenaers, B. & Dingemanse, N.J. (2012) Experimental evidence for adaptive personalities in a wild passerine bird. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **279**, 4885-4892.
- Nussey, D.H., Wilson, A.J. & Brommer, J.E. (2007) The evolutionary ecology of individual phenotypic plasticity in wild populations. *Journal of Evolutionary Biology*, **20**, 831-844.
- Obrist, M.K. (1995) Flexible bat echolocation: the influence of individual, habitat and conspecifics on sonar signal design. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **36**, 207-219.
- Odendaal, L.J., Jacobs, D.S. & Bishop, J.M. (2014) Sensory trait variation in an echolocating bat suggests roles for both selection and plasticity. *BMC Evolutionary Biology*, **14**, 60.
- Olvido, A.E., Fernandes, P.R. & Mousseau, T.A. (2010) Relative effects of juvenile and adult environmental factors on mate attraction and recognition in the cricket, *Allonemobius socius*. *Journal of Insect Science*, **10**.
- Olvido, A.E. & Mousseau, T.A. (1995) Effect of rearing environment on calling-song plasticity in the striped ground cricket. *Evolution*, **1995**, 1271-1277.
- Ophir, A.G., Schrader, S.B. & Gillooly, J.F. (2010) Energetic cost of calling: general constraints and species-specific differences. *Journal of Evolutionary Biology*, **23**, 1564-1569.
- Page, R.A. & Ryan, M.J. (2005) Flexibility in assessment of prey cues: frog-eating bats and frog calls. *Proceedings of the Royal Society B*, **272**, 841-847.
- Patricelli, G.L. & Blickley, J.L. (2006) Avian communication in urban noise: causes and consequences of vocal adjustment. *The Auk*, **123**, 639-649.
- Patten, M.A., Rotenberry, J.T. & Zuk, M. (2004) Habitat selection, acoustic adaptation, and the evolution of reproductive isolation. *Evolution*, **58**, 2144-2155.
- Peig, J. & Green, A.J. (2009) New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. *Oikos*, **118**, 1883-1891.

- Peig, J. & Green, A.J. (2010) The paradigm of body condition: a critical reappraisal of current methods based on mass and length. *Functional Ecology*, **24**, 1323–1332.
- Pérez-Rodríguez, L., Mougeot, F. & Alonso-Alvarez, C. (2010) Carotenoid-based coloration predicts resistance to oxidative damage during immune challenge. *Journal of Experimental Biology*, **213**, 1685–1690.
- Piersma, T. (1998) Phenotypic flexibility during migration: optimization of organ size contingent on the risks and rewards of fueling and flight? *Journal of Avian Biology*, **1998**, 511–520.
- Piersma, T. & Drent, J. (2003) Phenotypic flexibility and the evolution of organismal design. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 228–233.
- Piersma, T. & van Gils, J.A. (2011) *The Flexible Phenotype: Towards a Body-Centred Integration of Physiology, Ecology and Behaviour*. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Piersma, T. & Lindström, Åke. (1997) Rapid reversible changes in organ size as a component of adaptive behaviour. *Trends in Ecology & Evolution*, **12**, 134–138.
- Pigliucci, M. (2001) *Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture*. Johns Hopkins University Press.
- Pigliucci, M. (2005) Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now? *Trends in Ecology & Evolution*, **20**, 481–486.
- Pigliucci, M., Murren, C.J. & Schlichting, C.D. (2006) Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology*, **209**, 2362–2367.
- Pijanowski, B.C., Villanueva-Rivera, L.J., Dumyahn, S.L., Farina, A., Krause, B.L., Napoletano, B.M., Gage, S.H. & Pieretti, N. (2011) Soundscape ecology: the science of sound in the landscape. *BioScience*, **61**, 203–216.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D. & R Core Team. (2015) *Nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*.
- Pitcher, T.E. & Evans, J.P. (2001) Male phenotype and sperm number in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Canadian Journal of Zoology*, **79**, 1891–1896.
- Van de Pol, M. (2012) Quantifying individual variation in reaction norms: how study design affects the accuracy, precision and power of random regression models. *Methods in Ecology and Evolution*, **3**, 268–280.
- Poorter, H., Niklas, K.J., Reich, P.B., Oleksyn, J., Poot, P. & Mommer, L. (2012) Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control. *New Phytologist*, **193**, 30–50.

- Potvin, D.A. & Mulder, R.A. (2013) Immediate, independent adjustment of call pitch and amplitude in response to varying background noise by silvereyes (*Zosterops lateralis*). *Behavioral Ecology*, **24**, 1363–1368.
- Pough, F.H., Magnusson, W.E., Ryan, M.J., Wells, K.D. & Taigen, T.L. (1992) Behavioral energetics. *Environmental physiology of the amphibians*. (eds M.E. Feder & W.W. Burggren), pp. 395–436. University of Chicago Press, Chicago.
- Prestwich, K.N. (1994) The energetics of acoustic signaling in anurans and insects. *American Zoologist*, **34**, 625–643.
- Prestwich, K.N., Brugger, K.E. & Topping, M. (1989) Energy and communication in three species of hylid frogs: power input, power output and efficiency. *Journal of Experimental Biology*, **144**, 53–80.
- Price, T.D. (2006) Phenotypic plasticity, sexual selection and the evolution of colour patterns. *Journal of Experimental Biology*, **209**, 2368–2376.
- Price, T.D., Qvarnström, A. & Irwin, D.E. (2003) The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, **270**, 1433–1440.
- Price, C.A., Weitz, J.S., Savage, V.M., Stegen, J., Clarke, A., Coomes, D.A., Dodds, P.S., Etienne, R.S., Kerkhoff, A.J. & McCulloh, K. (2012) Testing the metabolic theory of ecology. *Ecology Letters*, **15**, 1465–1474.
- Proppe, D.S., Sturdy, C.B. & St Clair, C.C. (2013) Anthropogenic noise decreases urban songbird diversity and may contribute to homogenization. *Global Change Biology*, **19**, 1075–1084.
- Quick, N.J. & Janik, V.M. (2012) Bottlenose dolphins exchange signature whistles when meeting at sea. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **279**, 2539–2545.
- Quinn, G.P. & Keough, M.J. (2002) *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Rabin, L.A. & Greene, C.M. (2002) Changes to acoustic communication systems in human-altered environments. *Journal of Comparative Psychology*, **116**, 137–141.
- R Core Team. (2014) *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>, Vienna, Austria.
- Réale, D., McAdam, A.G., Boutin, S. & Berteaux, D. (2003) Genetic and plastic responses of a northern mammal to climate change. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, **270**, 591–596.

- Réale, D., Reader, S.M., Sol, D., McDougall, P.T. & Dingemanse, N.J. (2007) Integrating animal temperament within ecology and evolution. *Biological Reviews*, **82**, 291–318.
- Reinhold, K. (2011) Variation in acoustic signalling traits exhibits footprints of sexual selection. *Evolution*, **65**, 738–745.
- Ressel, S.J. (1996) Ultrastructural properties of muscles used for call production in Neotropical frogs. *Physiological Zoology*, **69**, 952–973.
- Ressel, S.J. (2001) Ultrastructural design of anuran muscles used for call production in relation to the thermal environment of a species. *Journal of Experimental Biology*, **204**, 1445–1457.
- Ricklefs, R.E. & Wikelski, M. (2002) The physiology/life-history nexus. *Trends in Ecology & Evolution*, **17**, 462–468.
- Ríos-Chelén, A.A., Garcia, C.M. & Riebel, K. (2005) Variation in the song of a sub-oscine, the vermilion flycatcher. *Behaviour*, **142**, 1115–1132.
- Ripmeester, E.A.P., Kok, J.S., Van Rijssel, J.C. & Slabbekoorn, H. (2010) Habitat-related birdsong divergence: a multi-level study on the influence of territory density and ambient noise in European blackbirds. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **64**, 409–418.
- Rittschof, C.C. & Robinson, G.E. (2014) Genomics: moving behavioural ecology beyond the phenotypic gambit. *Animal Behaviour*, **92**, 263–270.
- Robertson, B.A., Rehage, J.S. & Sih, A. (2013) Ecological novelty and the emergence of evolutionary traps. *Trends in Ecology & Evolution*, **28**, 552–560.
- Rohmann, K.N. & Bass, A.H. (2011) Seasonal plasticity of auditory hair cell frequency sensitivity correlates with plasma steroid levels in vocal fish. *Journal of Experimental Biology*, **214**, 1931–1942.
- Rubenstein, D.R. & Hauber, M.E. (2008) Dynamic feedback between phenotype and physiology in sexually selected traits. *Trends in Ecology & Evolution*, **23**, 655–658.
- Russo, D., Teixeira, S., Cistrone, L., Jesus, J., Teixeira, D., Freitas, T. & Jones, G. (2009) Social calls are subject to stabilizing selection in insular bats. *Journal of Biogeography*, **36**, 2212–2221.
- Ryan, M.J. (1988) Energy, calling, and selection. *American Zoologist*, **28**, 885–898.
- Ryan, M.J. (2001) *Anuran Communication*. Smithsonian Institution Press.
- Ryan, M.J., Tuttle, M.D. & Rand, A.S. (1982) Bat predation and sexual advertisement in a neotropical anuran. *The American Naturalist*, **119**, 136–139.

- Safran, R.J., Adelman, J.S., McGraw, K.J. & Hau, M. (2008) Sexual signal exaggeration affects physiological state in male barn swallows. *Current Biology*, **18**, R461–R462.
- Sarkar, S. (2004) From the Reactionsnorm to the evolution of adaptive plasticity: a historical sketch, 1909–1999. *Phenotypic plasticity: functional and conceptual approaches* (eds T.J. DeWitt & Scheiner), pp. 10–30. Oxford University Press, New York.
- Schlichting, C.D. (1986) The evolution of phenotypic plasticity in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **17**, 667–693.
- Schlichting, C.D. & Pigliucci, M. (1998) *Phenotypic Evolution: A Reaction Norm Perspective*, 1st ed. Sinauer Associates.
- Schluter, D. & Price, T. (1993) Honesty, perception and population divergence in sexually selected traits. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **253**, 117–122.
- Schmidt, K.A., Dall, S.R. & Van Gils, J.A. (2010) The ecology of information: an overview on the ecological significance of making informed decisions. *Oikos*, **119**, 304–316.
- Schmitz, O.J., Beckerman, A.P. & O'Brien, K.M. (1997) Behaviorally mediated trophic cascades: effects of predation risk on food web interactions. *Ecology*, **78**, 1388–1399.
- Schmitz, O.J., Krivan, V. & Ovadia, O. (2004) Trophic cascades: the primacy of trait-mediated indirect interactions. *Ecology Letters*, **7**, 153–163.
- Schulte-Hostedde, A.I., Zinner, B., Millar, J.S. & Hickling, G.J. (2005) Restitution of mass-size residuals: validating body condition indices. *Ecology*, **86**, 155–163.
- Schuster, S., Zollinger, S.A., Lesku, J.A. & Brumm, H. (2012) On the evolution of noise-dependent vocal plasticity in birds. *Biology Letters*, **8**, 913–916.
- Schwab, D.B. & Moczek, A.P. (2014) Resource allocation during ontogeny is influenced by genetic, developmental and ecological factors in the horned beetle, *Onthophagus taurus*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **281**, 20141625.
- Schwanz, L.E. (2008) Chronic parasitic infection alters reproductive output in deer mice. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **62**, 1351–1358.
- Schwartz, J.J., Ressel, S.J. & Bevier, C.R. (1995) Carbohydrate and calling: depletion of muscle glycogen and the chorusing dynamics of the neotropical treefrog *Hyla microcephala*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **37**, 125–135.
- Scott, I. & Evans, P.R. (1992) The metabolic output of avian (*Sturnus vulgaris*, *Calidris alpina*) adipose tissue liver and skeletal muscle: Implications for BMR/body mass

- relationships. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, **103**, 329–332.
- Sibly, R.M., Brown, J.H. & Kodric-Brown, A. (2012) *Metabolic Ecology: A Scaling Approach*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK.
- Sih, A. (2004) A behavioral ecological view of phenotypic plasticity. *Phenotypic Plasticity: Functional and Conceptual Approaches*. DeWitt, T.J. and Scheiner S.M. eds pp. 112–125. Oxford University Press, USA.
- Sih, A. (2013) Understanding variation in behavioural responses to human-induced rapid environmental change: a conceptual overview. *Animal Behaviour*, **85**, 1077–1088.
- Sih, A., Cote, J., Evans, M., Fogarty, S. & Pruitt, J. (2012) Ecological implications of behavioural syndromes. *Ecology Letters*, **15**, 278–289.
- Sih, A., Ferrari, M.C.O. & Harris, D.J. (2011) Evolution and behavioural responses to human-induced rapid environmental change. *Evolutionary Applications*, **4**, 367–387.
- Sih, A., Stamps, J., Yang, L.H., McElreath, R. & Ramenofsky, M. (2010) Behavior as a key component of integrative biology in a human-altered world. *Integrative and Comparative Biology*, **50**, 934–944.
- Slabbekoorn, H. & den Boer-Visser, A. (2006) Cities change the songs of birds. *Current Biology*, **16**, 2326–2331.
- Van der Sluijs, I., Gray, S.M., Amorim, M.C.P., Barber, I., Candolin, U., Hendry, A.P., Krahe, R., Maan, M.E., Utne-Palm, A.C., Wagner, H.J. & others. (2011) Communication in troubled waters: responses of fish communication systems to changing environments. *Evolutionary Ecology*, **25**, 623–640.
- Snell-Rood, E.C. (2013) An overview of the evolutionary causes and consequences of behavioural plasticity. *Animal Behaviour*, **85**, 1004–1011.
- Stamps, J. & Groothuis, T.G.G. (2009) The development of animal personality: relevance, concepts and perspectives. *Biological Reviews*, **85**, 301–325.
- Stamps, J.A. & Groothuis, T.G.G. (2010) Developmental perspectives on personality: implications for ecological and evolutionary studies of individual differences. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **365**, 4029–4041.
- Starck, J.M. (1999) Phenotypic flexibility of the avian gizzard: rapid, reversible and repeated changes of organ size in response to changes in dietary fibre content. *Journal of Experimental Biology*, **202**, 3171–3179.

- Stoddard, P.K. & Salazar, V.L. (2011) Energetic cost of communication. *Journal of Experimental Biology*, **214**, 200–205.
- Sugiura, H. (2007) Adjustment of temporal call usage during vocal exchange of coo calls in Japanese macaques. *Ethology*, **113**, 528–533.
- Sullivan, B.K. & Hinshaw, S.H. (1992) Female choice and selection on male calling behaviour in the grey treefrog *Hyla versicolor*. *Animal Behaviour*, **44**, 733–744.
- Sullivan, B.K. & Wagner Jr, W.E. (1988) Variation in advertisement and release calls, and social influences on calling behavior in the Gulf Coast toad (*Bufo valliceps*). *Copeia*, 1014–1020.
- Sultan, S.E. (2007) Development in context: the timely emergence of eco-devo. *Trends in Ecology & Evolution*, **22**, 575–582.
- Sun, J.W.C. & Narins, P.M. (2005) Anthropogenic sounds differentially affect amphibian call rate. *Biological Conservation*, **121**, 419–427.
- Taigen, T.L. & Wells, K.D. (1985) Energetics of vocalization by an anuran amphibian (*Hyla versicolor*). *Journal of Comparative Physiology B*, **155**, 163–170.
- Taigen, T.L., Wells, K.D. & Marsh, R.L. (1985) The enzymatic basis of high metabolic rates in calling frogs. *Physiological Zoology*, **58**, 719–726.
- Tumer, E.C. & Brainard, M.S. (2007) Performance variability enables adaptive plasticity of ‘crystallized’ adult birdsong. *Nature*, **450**, 1240–1244.
- Tuomainen, U. & Candolin, U. (2011) Behavioural responses to human-induced environmental change. *Biological Reviews*, **86**, 640–657.
- Underwood, A.J. (1997) *Ecological Experiments: Their Logical Design and Interpretation Using Analysis of Variance*. Cambridge University Press, Melbourne, Australia.
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D. & Zavala, M.A. (2006) Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*, **94**, 1103–1116.
- Verzijden, M.N., Ripmeester, E.A.P., Ohms, V.R., Snelderwaard, P. & Slabbekoorn, H. (2010) Immediate spectral flexibility in singing chiffchaffs during experimental exposure to highway noise. *Journal of Experimental Biology*, **213**, 2575–2581.
- Via, S. (1993) Adaptive phenotypic plasticity: target or by-product of selection in a variable environment? *The American Naturalist*, **142**, 352–365.
- Via, S., Gomulkiewicz, R., De Jong, G., Scheiner, S.M., Schlichting, C.D. & Van Tienderen, P.H. (1995) Adaptive phenotypic plasticity: consensus and controversy. *Trends in Ecology & Evolution*, **10**, 212–217.

- Violle, C., Enquist, B.J., McGill, B.J., Jiang, L., Albert, C.H., Hulshof, C., Jung, V. & Messier, J. (2012) The return of the variance: intraspecific variability in community ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, **27**, 244–252.
- Vitousek, M.N., Stewart, R.A. & Safran, R.J. (2013) Female plumage colour influences seasonal oxidative damage and testosterone profiles in a songbird. *Biology Letters*, **9**, 20130539.
- Vitousek, M.N., Zonana, D.M. & Safran, R.J. (2014) An integrative view of the signaling phenotype: dynamic links between signals, physiology, behavior and social context. *Current Zoology*, **60**, 739–754.
- Voituron, Y., Brepson, L., Richardson, C., Joly, P. & Lengagne, T. (2012) Energetics of calling in the male treefrog *Hyla arborea*: when being large means being sexy at low cost. *Behaviour*, **149**, 775–793.
- Wagner, W.E. (1989) Social correlates of variation in male calling behavior in Blanchard's cricket frog, *Acris crepitans blanchardi*. *Ethology*, **82**, 27–45.
- Walther, G.R. (2010) Community and ecosystem responses to recent climate change. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **365**, 2019–2024.
- Walther, G.R., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T.J.C., Fromentin, J.M., Hoegh-Guldberg, O., Bairlein, F. & others. (2002) Ecological responses to recent climate change. *Nature*, **416**, 389–395.
- Webb, J.F., Fay, R.R. & Popper, A. (2008) *Fish Bioacoustics*. Springer Science & Business Media.
- Weiner, J. (1992) Physiological limits to sustainable energy budgets in birds and mammals: ecological implications. *Trends in Ecology & Evolution*, **7**, 384–388.
- Wells, K.D. (2001) The energetics of calling in frogs. *Anuran communication* (ed M.J. Ryan), pp. 45–60. Smithsonian Institution Press.
- Wells, K.D. (2007) *The Ecology and Behavior of Amphibians*. University of Chicago Press.
- Wells, K.D. & Bevier, C.R. (1997) Contrasting patterns of energy substrate use in two species of frogs that breed in cold weather. *Herpetologica*, **70**–80.
- Wells, K.D. & Taigen, T.L. (1984) Reproductive behavior and aerobic capacities of male American toads (*Bufo americanus*): is behavior constrained by physiology? *Herpetologica*, **40**, 292–298.
- Wells, K.D. & Taigen, T.L. (1986) The effect of social interactions on calling energetics in the gray treefrog (*Hyla versicolor*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **19**, 9–18.

- West, G.B., Brown, J.H. & Enquist, B.J. (1997) A general model for the origin of allometric scaling laws in biology. *Science*, **276**, 122–126.
- West-Eberhard, M.J. (2003) *Developmental Plasticity and Evolution*. Oxford University Press, USA.
- West-Eberhard, M.J. (2005) Developmental plasticity and the origin of species differences. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **102**, 6543–6549.
- White, C.R., Cassey, P. & Blackburn, T.M. (2007) Allometric exponents do not support a universal metabolic allometry. *Ecology*, **88**, 315–323.
- White, S.A. & Mooney, R. (1999) Birdsong: can an old bird change his tune? *Current Biology*, **9**, R688–R690.
- White, C.R., Phillips, N.F. & Seymour, R.S. (2006) The scaling and temperature dependence of vertebrate metabolism. *Biology Letters*, **2**, 125–127.
- Whitman, D.W. & Agrawal, A.A. (2009) What is phenotypic plasticity and why is it important. *Phenotypic plasticity of insects: Mechanisms and consequences* (eds D.W. Whitman & T.N. Ananthakrishnan), pp. 1–63. Science Publishers, Enfield, NH, USA.
- Wilkins, M.R., Seddon, N. & Safran, R.J. (2013) Evolutionary divergence in acoustic signals: causes and consequences. *Trends in Ecology & Evolution*, **28**, 156–166.
- Williams, T.D. (2008) Individual variation in endocrine systems: moving beyond the ‘tyranny of the Golden Mean’. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **363**, 1687–1698.
- Willmer, P., Stone, G. & Johnston, I. (2009) *Environmental Physiology of Animals*. John Wiley & Sons.
- Wolf, M. & Weissing, F.J. (2012) Animal personalities: consequences for ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, **27**, 452–461.
- Wood, W.E. & Yezerinac, S.M. (2006) Song sparrow (*Melospiza melodia*) song varies with urban noise. *The Auk*, **123**, 650–659.
- Wund, M.A. (2006) Variation in the echolocation calls of little brown bats (*Myotis lucifugus*) in response to different habitats. *The American Midland Naturalist*, **156**, 99–108.
- Zhou, Y., Kuster, H.K., Pettis, J.S., Danka, R.G., Gleason, J.M. & Greenfield, M.D. (2008) Reaction norm variants for male calling song in populations of *Achroia grisella* (Lepidoptera: Pyralidae): toward a resolution of the lek paradox. *Evolution*, **62**, 1317–1334.

- Ziegler, L., Arim, M. & Narins, P.M. (2011) Linking amphibian call structure to the environment: the interplay between phenotypic flexibility and individual attributes. *Behavioral Ecology*, **22**, 520–526.
- Zuur, A., Ieno, E.N., Walker, N., Saveliev, A.A. & Smith, G.M. (2009) *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. Springer.

APÉNDICE



LISTA DE REFERENCIAS UTILIZADAS EN LA TABLA 4.2

- Baraquet M, Grenat PR, Salas NE, Martino AL (2014) Geographic variation in the advertisement call of *Hypsiboas cordobae* (Anura, Hylidae). *Acta Ethologica*. doi: 10.1007/s10211-014-0188-2
- Bee MA (2002) Territorial male bullfrogs (*Rana catesbeiana*) do not assess fighting ability based on size-related variation in acoustic signals. *Behav Ecol* 13:109–124.
- Bee MA, Cook JM, Love EK, et al (2010) Assessing acoustic signal variability and the potential for sexual selection and social recognition in boreal chorus frogs (*Pseudacris maculata*). *Ethology* 116:564–576.
- Bee MA, Suyesh R, Biju SD (2013a) Vocal behavior of the Ponmudi bush frog (*Raorchestes graminirupes*): repertoire and individual variation. *Herpetologica* 69:22–35.
- Bee MA, Suyesh R, Biju SD (2013b) The vocal repertoire of *Pseudophilautus kani*, a shrub frog (Anura: Rhacophoridae) from the Western Ghats of India. *Bioacoustics* 22:67–85.
- Bernal XE, Guarnizo C, Lüddecke H (2005) Geographic variation in advertisement call and genetic structure of *Colostethus palmatus* (Anura, Dendrobatidae) from the Colombian Andes. *Herpetologica* 61:395–408.
- Brepson L, Voituron Y, Lengagne T (2013) Condition-dependent ways to manage acoustic signals under energetic constraint in a tree frog. *Behav Ecol* 24:488–496.
- Castellano S, Cuatto B, Rinella R, et al (2002) The advertisement call of the European treefrogs (*Hyla arborea*): a multilevel study of variation. *Ethology* 108:75–89.
- Castellano S, Giacoma C, Dujsebayaeva T (2000) Morphometric and advertisement call geographic variation in polyploid green toads. *Biol J Linn Soc* 70:341–360.
- Castellano S, Rosso A, Doglio S, Giacoma C (1999) Body size and calling variation in the green toad (*Bufo viridis*). *J Zool* 248:83–90.

- Castellano S, Zanollo V, Marconi V, Berto G (2009) The mechanisms of sexual selection in a lek-breeding anuran, *Hyla intermedia*. *Anim Behav* 77:213–224.
- Cherry MI (1993) Sexual selection in the raucous toad, *Bufo rangeri*. *Anim Behav* 45:359–373.
- Forester DC, Czarnowsky R (1985) Sexual selection in the spring peeper, *Hyla crucifer* (Amphibia, Anura): role of the advertisement call. *Behaviour* 92:112–128.
- Gasser H, Amezcuita A, Hoedl W (2009) Who is calling? Intraspecific call variation in the arrobatid frog *Allobates femoralis*. *Ethology* 115:596–607.
- Given MF (1999) Frequency alteration of the advertisement call in the carpenter frog, *Rana virgatipes*. *Herpetologica* 55:304–317.
- Given MF, Montgomery WL (2002) Interrelationships among calling effort, growth rate, and chorus tenure in *Bufo fowleri*. *Copeia* 2002:979–987.
- Kaefer IL, Pimentel-Lima AP (2012) Sexual signals of the Amazonian frog *Allobates paleovarzensis*: geographic variation and stereotypy of acoustic traits. *Behaviour* 149:15–33.
- Lingnau R, Bastos RP (2007) Vocalizations of the Brazilian torrent frog *Hylodes heyeri* (Anura: Hylodidae): Repertoire and influence of air temperature on advertisement call variation. *J Nat Hist* 41:1227–1235.
- Lüddecke H, Sánchez OR (2002) Are tropical highland frog calls cold-adapted? The case of the Andean frog *Hyla labialis*. *Biotropica* 34:281–288.
- Marquez R, Bosch J (1997) Male advertisement call and female preference in sympatric and allopatric midwife toads. *Anim Behav* 54:1333–1345.
- Morrison C, Hero J-M, Smith WP (2001) Mate selection in *Litoria chloris* and *Litoria xanthomera*: females prefer smaller males. *Austral Ecol* 26:223–232.
- Ramer JD, Jenssen TA, Hurst CJ (1983) Size-related variation in the advertisement call of *Rana clamitans* (Anura: Ranidae), and its effect on conspecific males. *Copeia* 1983:141–155.
- Robertson JG (1986) Male territoriality, fighting and assessment of fighting ability in the Australian frog *Uperoleia rugosa*. *Anim Behav* 34:763–772.

- Rodríguez A, de la Nuez D, Alonso R (2010) Intraspecific variation in the advertisement call of the cloud-forest frog *Eleutherodactylus glamyrus* (Anura: Eleutherodactylidae). *J Herpetol* 44:457–466.
- Röhr DL, Juncá FA (2013) Micro-habitat influence on the advertisement call structure and sound propagation efficiency of *Hypsiboas crepitans* (Anura: Hylidae). *J Herpetol* 47:549–554.
- Smith MJ, Roberts JD, Hammond TJ, Davis RA (2003) Intraspecific variation in the advertisement call of the sunset frog *Spicospina flammocaerulea* (Anura: Myobatrachidae): a frog with a limited geographic distribution. *J Herpetol* 37:285–291.
- Sullivan BK (1982) Significance of size, temperature and call attributes to sexual selection in *Bufo woodhousei australis*. *J Herpetol* 16:103–106.
- Sullivan BK (1984) Advertisement call variation and observations on breeding behavior of *Bufo debilis* and *B. punctatus*. *J Herpetol* 18:406–411.
- Sullivan BK (1989) Interpopulational variation in vocalizations of *Bufo woodhousii*. *J Herpetol* 23:368–373.
- Sullivan BK, Hinshaw SH (1990) Variation in advertisement calls and male calling behavior in the spring peeper (*Pseudacris crucifer*). *Copeia* 1990:1146–1150.
- Sullivan BK, Hinshaw SH (1992) Female choice and selection on male calling behaviour in the grey treefrog *Hyla versicolor*. *Anim Behav* 44:733–744.
- Sullivan BK, Malmos KB, Gergus EW, Bowker RW (2000) Evolutionary implications of advertisement call variation in *Bufo debilis*, *B. punctatus*, and *B. retiformis*. *J Herpetol* 34:368–374.
- Sullivan BK, Wagner Jr WE (1988) Variation in advertisement and release calls, and social influences on calling behavior in the Gulf Coast toad (*Bufo valliceps*). *Copeia* 1014–1020.
- Tárano Z (2001) Variation in male advertisement calls in the Neotropical frog *Physalaemus enesefae*. *Copeia* 2001:1064–1072.
- Thomas A, Suyesh R, Biju SD, Bee MA (2014) Vocal behavior of the elusive purple frog of India (*Nasikabatrachus sahyadrensis*), a fossorial species endemic to the Western Ghats. *PLoS One* 9:e84809. doi: 10.1371/journal.pone.0094121

- Toledo LF, Haddad CF (2005) Acoustic repertoire and calling behavior of *Scinax fuscomarginatus* (Anura, Hylidae). *J Herpetol* 39:455–464.
- Valetti JA, Martino AL (2013) Temperature effect on the advertisement call of *Pleurodema tucumanum* (Anura: Leiuperidae). *Phyllomedusa* 11:125–134.
- Wagner WE (1989) Social correlates of variation in male calling behavior in Blanchard's cricket frog, *Acris crepitans blanchardi*. *Ethology* 82:27–45.
- Zimmitti SJ (1999) Individual variation in morphological, physiological, and biochemical features associated with calling in spring peepers (*Pseudacris crucifer*). *Physiol Biochem Zool* 72:666–676.
- Zweifel RG (1959) Effect of temperature on call of the frog, *Bombina variegata*. *Copeia* 1959:322–327.
- Zweifel RG (1968) Effects of temperature, body size, and hybridization on mating calls of toads, *Bufo a. americanus* and *Bufo woodhousii fowleri*. *Copeia* 1968:269–285.