

UNIVERSIDAD DE CHILE – FACULTAD DE CIENCIAS – ESCUELA DE PREGRADO



“Amplificación y propagación de señales acústicas en cuevas de anuros”

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en
cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de
Biólogo con mención en Medio Ambiente por

Matías Igor Muñoz Sandoval

Director del Seminario de Título:
Dr. Mario Penna Varela
Facultad de Medicina – Universidad de Chile

Profesor Patrocinante:
Dra. Carezza Botto Mahan
Facultad de Ciencias – Universidad de Chile

Abril – 2015
Santiago – Chile

DEDICATORIA

Este trabajo está especialmente dedicado a mis abuelos, mi tía Sonia y a mis papás. Gracias por todo el cariño que me han dado, por su constante preocupación y su incondicional apoyo.

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a mis compañeros, el Wachi, Faviola, Jocelyn y Nahuel, por todos los momentos que hemos pasado y por ser mis grandes amigos.

A Nicolette, por su compañía.

Al profesor Mario Penna, quien ha sido fundamental en la realización del presente seminario de título y en quien he encontrado el apoyo necesario para llevar a cabo otros proyectos.

A los muchachos del laboratorio de Neuroetología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, Maricel, Claudio, Nelson, Felipe y Antonieta, quienes en varias ocasiones debieron escucharme hablar de las cuevitas de los *Eupsophus*, aportando valiosos comentarios. En particular, gracias a Felipe, quien me introdujo y me guió en la realización de los análisis estadísticos.

Finalmente, a la Fundación Guillermo Puelma, que financió mi asistencia al IV Congreso de Anfibios y Reptiles de Chile realizado en Antofagasta durante el año 2013 y al X Congreso Latinoamericano de Herpetología realizado en Colombia durante el año 2014.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRACT.....	xi
INTRODUCCIÓN.....	1
MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
Sitio de estudio.....	8
Emisión y registro de señales.....	8
Experimentos de propagación de sonidos desde las cuevas.....	10
Experimentos de recepción de sonidos al interior de las cuevas.....	12
Experimentos de recepción de cantos de vecinos al interior de las cuevas.....	13
Análisis de señales.....	14
Análisis estadístico.....	16
Experimentos de propagación de sonidos desde las cuevas.....	16
Experimentos de recepción de sonidos al interior de las cuevas.....	17
RESULTADOS.....	20
Experimentos de propagación de sonidos desde las cuevas.....	20
Experimentos de recepción de sonidos al interior de las cuevas.....	34
Experimentos de recepción de cantos de vecinos al interior de las cuevas.....	39
DISCUSIÓN.....	41
Experimentos de propagación de sonidos desde las cuevas.....	41
Experimentos de recepción de sonidos al interior de las cuevas.....	44
CONCLUSIONES.....	51

REFERENCIAS.....	52
ANEXO.....	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	9
Tabla 2.	19
Tabla 3.	20
Tabla 4.	27
Tabla 5.	32
Tabla 6.	37
Tabla 7.	40
Tabla A1.	58
Tabla A2.	59
Tabla A3.	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	10
Figura 2.	11
Figura 3.	13
Figura 4.	21
Figura 5.	23
Figura 6.	25
Figura 7.	26
Figura 8.	29
Figura 9.	30
Figura 10.	31
Figura 11.	31
Figura 12.	35
Figura 13.	36
Figura 14.	38
Figura 15.	38
Figura 16.	39

RESUMEN

Las señales acústicas son la principal forma de comunicación en anuros y la propagación de estas señales en el medio dependerá de la ubicación del emisor, de la ubicación del receptor y de las características físicas del ambiente. En la presente investigación se evaluó efecto de las cuevas desde donde cantan dos especies de anuros sobre la amplitud de los sonidos emitidos desde el interior. Las señales acústicas utilizadas para evaluar este efecto fueron los cantos de anuncio emitidos por cuatro especies de anfibios del bosque templado (*Eupsophus calcaratus*, *Eupsophus emiliopugini*, *Batrachyla antartandica* y *Pleurodema thaul*), dos de las cuales no utilizan cuevas naturalmente (*B. antartandica* y *P. thaul*). Además, se determinó el efecto de las cuevas en el patrón de propagación de los cantos de estas cuatro especies en el ambiente, para lo cual se calculó el exceso de atenuación. Tanto la amplificación como la propagación de las señales fueron evaluadas mediante experimentos de *playback*, ubicando un pequeño parlante al interior y en el borde de las cuevas y registrando las señales con seis micrófonos ubicados a 0; 6,25; 12,5; 25; 50 y 100 cm del borde de las cuevas. Además de los experimentos de propagación, se determinó el efecto de amplificación de las cuevas durante la recepción de los cantos de las mismas cuatro especies de anuros y de dos especies de aves (*Strix rufipes* y *Glaucidium nanum*) que potencialmente depredan anfibios en la localidad de estudio. Para esto se ubicaron simultáneamente dos micrófonos pequeños, uno al interior y otro en el exterior de las cuevas, y se registraron los cantos de las cuatro especies de anfibios y las dos especies de aves emitidos desde un parlante ubicado a 70 cm del borde de cada cueva. Adicionalmente se evaluó el efecto de las cuevas sobre la recepción de cantos emitidos durante interacciones naturales.

Los resultados muestran que los refugios utilizados por ambas especies de *Eupsophus* amplifican tanto los sonidos generados al interior como los sonidos presentes en el ambiente que estos anfibios habitan. La amplificación experimentada por los cantos de las cuatro especies de anfibios emitidos desde el interior de las cavidades fue de aproximadamente 3 – 8 dB en promedio, y en general la ubicación del parlante, al interior o en el borde de las cuevas, no afectó el exceso de atenuación. Los cantos de las cuatro especies de anuros y de las dos especies de aves emitidos por un parlante ubicado externamente a las cuevas fueron amplificados aproximadamente 6 – 11 dB en promedio, valores que coinciden con lo encontrado mediante el registro de cantos naturales.

Estos resultados indican que las cavidades ocupadas por ambas especies de *Eupsophus* no amplifican particularmente los cantos de alguna de las especies estudiadas. Sin embargo, la amplificación experimentada por los cantos de ambas especies de *Eupsophus*, durante la emisión y la recepción desde y hacia el interior de las cuevas, permite a los individuos incrementar la distancia a la cual se transmiten sus vocalizaciones, lo cual favorecería su detección por parte de hembras y de otros machos. Además, estos refugios facilitarían la detección de los sonidos de origen biótico, ya sea de conoespecíficos o heteroespecíficos, presentes en el ambiente.

ABSTRACT

Acoustic signals are the main communication modality in anurans and the transmission of these signals through the environment depends on the location of the sender, the location of the receiver and the physical properties of the environment. We studied the effect of burrows occupied by two species of the genus *Eupsophus* on the amplitude of internally-emitted calls of four amphibian species from the temperate forest (*Eupsophus calcaratus*, *Eupsophus emiliopugini*, *Batrachyla antartandica* and *Pleurodema thaul*), two of which do not occupy cavities as breeding site (*B. antartandica* and *P. thaul*). Also, we explored the effect of the burrows on the calls transmission pattern by calculating the excess attenuation. Both, the amplification and the propagation of the signals, were assessed by means of playback experiments. A small loudspeaker was placed inside and on the border of the burrows and the signals were recorded with six microphones placed at 0, 6.25, 12.5, 25, 50 and 100 cm from the burrows' opening. Additionally, we carried out experiments to assess the influence of the burrows on the reception of externally generated sounds. The sounds tested were the calls from the same four anuran species used for propagation experiments and the calls emitted by two owls (*Strix rufipes* and *Glaucidium nanum*) that possibly prey on amphibians at the study site. For this experiments, we placed two small microphones, one inside and one outside of the burrows and recorded the calls broadcast by a loudspeaker placed at about 70 cm from the burrows' opening. Additionally, we evaluated the influence of the burrows over the reception of calls emitted during natural interactions.

Results show that the cavities occupied by both *Eupsophus* species amplify the signals emitted from within these refugia and also the sounds present at the external

environment. The calls from the four amphibian species were amplified on average about 3 – 8 dB when broadcast from inside the burrows, and generally the excess attenuation of the calls was independent of the loudspeaker position. When broadcast externally, the calls of the four species of anurans and the two species of birds were amplified on average about 6 – 11 dB inside the cavities. This effect is in agreement with the amplification experienced by calls emitted by nearby neighbours during natural interactions.

From these results we conclude that the cavities occupied by both species of *Eupsophus* do not amplify the calls of a particular species. However, the amplitude boost induced by the burrows during the emission and reception of acoustic signals increases the distance at which these sounds propagate, rendering them more likely to be detected by conspecific females and other nearby males. Also, these burrows facilitate the detection of conspecific and heterospecific sounds present on the environment where *Eupsophus* breed.

INTRODUCCIÓN

Para que la comunicación entre dos o más individuos sea efectiva es necesario que la señal emitida sea al menos detectada por algún receptor. En el caso de las señales acústicas, la distancia a la cual una señal puede ser detectada dependerá de factores como la amplitud de la señal en la fuente, la ubicación espacial del receptor, su sensibilidad auditiva, el nivel de ruido en el canal de propagación y la estructura física del ambiente en el cual la señal es transmitida (Bradbury & Vehrencamp 2011).

En general, para que la comunicación acústica sea efectiva, es necesario que el receptor además de detectar la señal, sea capaz de reconocerla y discriminarla de otros sonidos basado en sus características temporales y/o espectrales (e.g., Charlton y col. 2012). Sin embargo, estas características son modificadas durante la propagación del sonido en el ambiente (Wiley & Richards 1978; Richards & Wiley 1980), de modo que un sonido puede verse afectado principalmente por dos tipos de perturbación, la pérdida de fidelidad y la pérdida de amplitud, las que en conjunto comprometen la efectividad de la señal (Ryan & Kime 2003). Un sonido que se propaga esféricamente en un espacio libre ideal disminuirá su amplitud 6 dB cada vez que se incrementa al doble la distancia desde la fuente emisora (Wiley & Richards 1978). No obstante, el ambiente en el cual ocurre la comunicación acústica raramente se asemeja a un espacio libre ideal, por lo que en general se observa atenuación adicional a aquella esperada por la propagación esférica, lo que se denomina exceso de atenuación (Wiley & Richards 1978). Experimentos de propagación de tonos a través de diversos ambientes han mostrado que en general sonidos con longitudes de onda cortas (i.e., frecuencias altas) sufren mayor exceso de atenuación que sonidos con longitudes de onda largas (Morton 1975, Marten & Marler 1977, Römer & Lewald

1992, Penna & Solis 1998, Penna y col. 2006, Llusia y col. 2013, Morrill y col. 2013), debido principalmente a la dispersión (“*scattering*”) que experimentan las ondas sonoras al encontrarse con objetos o heterogeneidades en el medio (Wiley & Richards 1978). Se ha establecido que las señales emitidas por algunos animales presentan adaptaciones para la comunicación en sus ambientes nativos y en el caso de las señales acústicas, Morton (1975) observó que las características espectrales de los cantos de aves que habitan en el bosque a nivel del suelo se corresponden con aquellas frecuencias que experimentan menor exceso de atenuación en aquel hábitat. Esta correspondencia se atribuyó a la presión selectiva que las propiedades acústicas del ambiente ejercen sobre la estructura de la señal, idea que fue formalizada en la denominada “hipótesis de adaptación acústica” (Morton 1975). Estudios posteriores realizados en anuros no han encontrado una relación óptima entre las características de las señales que emiten y el ambiente en que son propagadas naturalmente (Zimmerman 1983, Penna & Solis 1998, Kime y col. 2000, Castellano y col. 2003, Penna y col. 2006, Llusia y col. 2013, Malone y col. 2014, Vargas-Salinas & Amézquita 2014). Sin embargo, parte de la variabilidad en la modulación de la frecuencia dominante del canto de anuncio de 95 especies de anfibios bolivianos puede ser explicada por las condiciones del microhábitat en que son emitidos (Bosch & De la Riva 2004) y experimentos de propagación mediante *playback* de cantos de dos subespecies de ranas grillos (*Acris crepitans*) que habitan en ambientes contrastantes, una en zonas boscosas y otra en áreas abiertas, han concluido que la diferencia entre la eficiencia de propagación que experimentan al ser emitidos en zonas boscosas se debe a la presión selectiva ejercida por este ambiente (Ryan y col. 1990).

Algunos animales pueden aumentar la eficiencia de propagación de sus vocalizaciones mediante la modificación de su conducta, como ha sido largamente

demostrado en aves, las que al aumentar la altura a la cual emiten sus cantos disminuyen significativamente el exceso de atenuación que éstos experimentan en relación a señales emitidas más cercanas al suelo (Arak & Eiriksson 1992, Mathevon y col. 1996, Nemeth y col. 2001). Del mismo modo, la ubicación del receptor puede tener un efecto sobre la señal que percibe, como es el caso del mirlo común (*Turdus merula*), que al percharse a alturas mayores recibe las vocalizaciones con específicas menos degradadas respecto a si se ubicara cercano al suelo (Dabelsteen y col. 1993).

Otra manera de contrarrestar el efecto del ambiente sobre la degradación de las señales es la utilización de algunas estructuras que aumenten la amplitud de las señales que desde allí se emiten. Esto ha sido reportado para las vocalizaciones emitidas por los murciélagos ala de disco (*Thyroptera tricolor*) desde el interior de hojas cónicas (Chaverri & Guillam 2013). También se ha reportado en grillos que construyen cuevas que tienen la propiedad de acoplar las relativamente pequeñas estructuras productoras de sonido con el medio circundante, generando un aumento en la amplitud y eficiencia de producción de las señales (Bennet-Clark 1987, Bailey y col. 2001). Otros ejemplos corresponden a anfibios que emiten cantos de anuncio ubicados al interior de agujeros en troncos (Lardner & bin Lakim 2002), cuevas excavadas en el suelo (Bailey & Roberts 1981) o incluso estructuras artificiales como drenajes (Tan y col. 2014); roedores fosoriales que vocalizan desde el interior de los túneles que habitan (Lange y col. 2007, Schleich & Antenucci 2009) y también una especie de pez que emite sonidos de baja frecuencia al interior de refugios construidos bajo piedras o conchas (Lugli 2013).

La amplificación al interior de refugios de sonidos generados externamente ha sido reportada en tres especies de anfibios del género *Eupsophus* que utilizan cavidades excavadas en el suelo (Penna & Solis 1996; Penna 2004; Penna & Márquez

2007) y en una especie de murciélago que ocupa hojas tubulares como sitio de descanso (Chaverri & Guillam 2013). Este efecto ha sido estudiado únicamente sobre señales conespecíficas, no obstante, los ambientes acústicos se componen, en general, de sonidos emitidos por varias especies (e.g., Amézquita y col. 2011; Chek y col. 2003) y es posible que estos sonidos también sean amplificadas al interior de estos refugios. De ocurrir, este efecto podría influenciar la conducta del animal residente, dado que algunas especies responden a la intrusión de sonidos heteroespecíficos ya sea disminuyendo (e.g., Penna & Meier 2011; Penna & Velásquez 2011) o aumentando (e.g., Phelps y col. 2007) su actividad vocal. Particularmente relevante podría ser la amplificación de señales emitidas por depredadores, ya que ciertos organismos son capaces reconocer estos sonidos y responder mediante conductas que les permitan disminuir el riesgo de ser depredados (Remage-Healey y col. 2006; Hughes y col. 2014).

En resumen, la interacción entre la ubicación espacial del emisor y receptor en términos de la amplificación y propagación de la señal podría limitar o incrementar la distancia a la cual la comunicación es efectiva, dependiendo de la magnitud que cada uno de estos efectos tenga sobre las características espectrales y temporales de la señal. Por ejemplo, en ambientes desfavorables para la propagación, la utilización de ciertas estructuras amplificadoras podría ser altamente relevante durante las interacciones acústicas, al compensar la pérdida de amplitud por atenuación o mejorar la eficiencia de propagación.

Los machos de *Eupsophus calcaratus* y *E. emiliopugini*, anuros endémicos de Chile, emiten cantos de anuncio desde el interior de cuevas parcialmente inundadas en las que ocurre el apareamiento y posteriormente el cuidado parental de los huevos, entre los meses de julio a octubre (*E. calcaratus*) y octubre a diciembre (*E.*

emiliopugini) (Penna & Moreno-Gómez 2014). Se ha observado que estas cavidades son reutilizadas entre temporadas reproductivas y que son ocupadas sucesivamente por ambas especies, es decir, refugios que se encontraban ocupados por machos de *E. emiliopugini* o *E. calcaratus* durante su época reproductiva correspondiente, han vuelto a ser ocupados en años o temporadas posteriores por machos conespecíficos o por machos de la otra especie (Penna & Moreno-Gomez 2014). Además de su función como refugio, las cuevas tienen propiedades acústicas relevantes para las interacciones vocales entre machos, ya que los cantos emitidos por machos vecinos conespecíficos son amplificados al interior de estas cavidades (Penna & Solis 1996; Penna 2004). Mediciones del nivel de presión sonora de los cantos en condiciones naturales y de los umbrales auditivos en ambas especies de *Eupsophus* indican que la comunicación entre machos está limitada a distancias de aproximadamente 2 m para *E. calcaratus* (Penna y col. 2013) y mayores a 8 m para *E. emiliopugini* (Penna & Moreno-Gómez, 2014). Sin embargo, estas distancias podrían ser mayores si se considera el efecto de las cuevas sobre la amplitud de sonidos generados externamente. El rol que estos refugios puedan tener en la amplificación y propagación de los cantos de machos que residen en estas cavidades permanece inexplorado.

En el presente seminario de título se realizaron experimentos de reproducción de sonidos pregrabados ("*playback*") desde pequeños parlantes ubicados al interior de cuevas desde donde cantan los machos de *E. calcaratus* y *E. emiliopugini*. Mediante estos experimentos se evaluó el efecto que estos refugios tienen sobre la amplitud y propagación de tonos puros y cantos de ambas especies de *Eupsophus* y de otras dos especies de anuros simpátricos que cantan desde la superficie del sustrato y desde el agua (*Batrachyla antartandica* y *Pleurodema thaul*, respectivamente). Además, se llevaron a cabo experimentos de *playback* para evaluar el efecto de las cuevas sobre la

amplitud de tonos puros y cantos de las mismas cuatro especies de anfibios y dos especies de aves potencialmente depredadoras de anuros (*Strix rufipes* y *Glaucidium nanum*) reproducidos desde parlantes ubicados en el exterior y registrados por micrófonos ubicados al interior de las cavidades. Finalmente se registraron con micrófonos ubicados al interior de las cuevas los cantos emitidos por vecinos durante interacciones naturales.

Hipótesis

Al ser emitidos desde el interior de las cuevas, los cantos de ambas especies de *Eupsophus* experimentarán mayor amplificación que los cantos de otras especies de anuros que no utilizan estas cavidades naturalmente. Recíprocamente, cuando los cantos son emitidos desde el exterior y registrados con micrófonos ubicados en el interior de las cavidades, se espera que los cantos de *E. calcaratus*, *E. emiliopugini* y las dos especies de aves sean amplificados en mayor medida que los cantos de las otras especies de anuros estudiadas. Esto contribuiría a la facilitación de la comunicación intra-específica y a la detección acústica de potenciales depredadores.

Objetivo general

Determinar el efecto que las cuevas utilizadas por *E. calcaratus* y *E. emiliopugini* tienen sobre la amplitud y propagación de los sonidos generados desde el interior y exterior de estos refugios, ya sea de vocalizaciones pertenecientes a ambas especies de *Eupsophus* y/o a otras especies de anuros o aves.

Objetivos específicos

1. Determinar el efecto que las cuevas de *E. calcaratus* y *E. emiliopugini* tienen en la amplificación de sonidos emitidos desde el interior de estos refugios: tonos puros de distintas frecuencias y cantos pregrabados de especies de anuros residentes y no residentes.
2. Determinar los patrones de atenuación que tonos y cantos pregrabados de diferentes especies de anuros experimentan durante su propagación al ser emitidos desde el interior de las cuevas de *E. calcaratus* y *E. emiliopugini*.
3. Determinar el efecto de amplificación que tonos, cantos de diferentes especies de anuros y aves experimentan al interior de las cuevas de *E. calcaratus* y *E. emiliopugini* cuando son emitidos externamente y registrados desde el interior de estos refugios.
4. Determinar el efecto de amplificación de las cuevas de *E. calcaratus* y *E. emiliopugini* sobre cantos producidos durante interacciones naturales y registrados desde el interior de estos refugios.

MATERIALES Y MÉTODOS

A) Sitio de estudio.

Los experimentos de propagación y recepción de señales acústicas fueron realizados en la localidad de La Picada, X región de Los Lagos, Chile (41° 06' S, 72° 30' W, 820 m), al interior del Parque Nacional Vicente Pérez Rosales. Ambos tipos de experimentos se realizaron en cuevas de *E. calcaratus* y *E. emiliopugini* durante la época reproductiva de cada especie, en los meses de octubre y noviembre del año 2013, respectivamente. El sitio de estudio corresponde a un pantano de sustrato volcánico, donde la vegetación presente está compuesta principalmente por musgos (*Rhacomytrium*), pastos (*Scyrcpus* y *Myrteola*) y helechos (*Blechnum*).

B) Emisión y registro de señales.

Utilizando el software Audacity (versión 2.0.3; SourceForge) se sintetizó un único archivo de audio (44,1 kHz y 16 bit), el cual fue utilizado para los experimentos de propagación y recepción. El archivo, de aproximadamente 8 minutos de duración, contenía ruido blanco, tonos puros y cantos de anuncio de 4 especies de anfibios y 2 especies de aves. Los tonos constaban de una serie de 40 tonos puros de 1 s de duración conformada por 30 tonos de 100 a 3000 Hz en intervalos de 100 Hz y 10 tonos de 3000 a 5000 Hz en intervalos de 200 Hz. Entre los cantos se incluyeron cinco cantos de anuncio de 16 individuos de *E. calcaratus*, cinco cantos de anuncio de 15 individuos de *E. emiliopugini*, cinco pulsos del canto de anuncio de 12 individuos de *B. antartandica*, cinco cantos de anuncio de 10 individuos de *P. thaul*, diez cantos de un ejemplar de concón (*Strix rufipes*) y diez trenes de 10 pulsos cada uno de un ejemplar de chuncho (*Glaucidium nanum*). Todas estas vocalizaciones naturales fueron

previamente registradas en el sitio de estudio a una distancia aproximada de 20 - 50 cm para los anuros y entre 15 - 20 m para las aves utilizando un micrófono direccional (Sennheiser ME 66) y una grabadora digital (Tascam DR-100). Los cantos de las especies incluidas en el archivo de audio diferían en sus características temporales y espectrales. En la Tabla 1 se resumen la frecuencia dominante y duración del canto o pulso de los individuos de cada especie y en la Figura 1 se muestra el oscilograma y espectro de poder de un canto representativo de cada especie incluida en el archivo de audio.

Tabla 1. Frecuencia dominante y duración de los cantos o pulsos de canto (en el caso de *P. thaul* y *B. antartandica*) de las especies incluidas en el archivo de audio utilizado para los experimentos. Para los cantos de *E. calcaratus* se muestran las frecuencias del segundo (F2) y tercer (F3) armónicos, que corresponden a los componentes espectrales de mayor magnitud en esta especie (ver Figura 1). Los valores de frecuencia dominante se obtuvieron del espectro de poder de cada canto calculado con un tamaño de ventana de 3171 puntos (resolución de frecuencia = 13,9 Hz). Los datos en la tabla corresponden al promedio \pm desviación estándar. La duración de la vocalización de chuncho (*Glaucidium nanum*) no se muestra debido a que los diez pulsos utilizados para crear el archivo de audio fueron cortados de un canto de mayor duración. Abreviaciones: N = número de individuos incluidos en el archivo de audio.

Especie	N		Frecuencia dominante (Hz)	Duración del canto o pulso (ms)
<i>Eupsophus emiliopugini</i>	15		1059 \pm 197	263 \pm 48
<i>Eupsophus calcaratus</i>	16	F2	1395 \pm 89	309 \pm 41
		F3	2074 \pm 131	
<i>Pleurodema thaul</i>	10		1654 \pm 112	79 \pm 15
<i>Batrachyla antartandica</i>	12		1919 \pm 205	16 \pm 7
<i>Strix rufipes</i>	1		2075	2960
<i>Glaucidium nanum</i>	1		1385	-

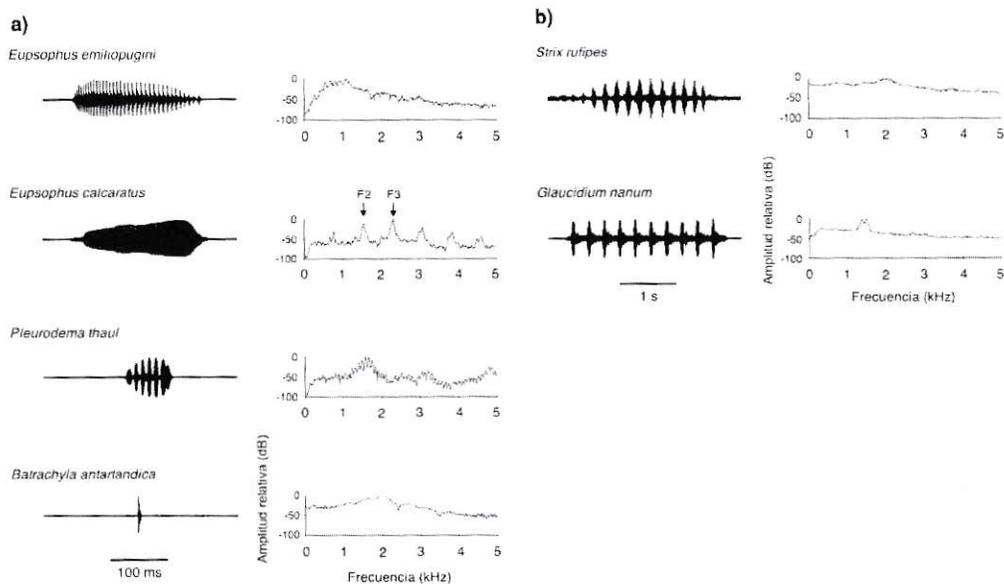


Figura 1. Oscilogramas y espectros de poder de un canto representativo de cada especie incluida en el archivo de audio utilizado para los experimentos. a) cantos de las cuatro especies de anfibios y b) cantos de las dos especies de aves. Las flechas en el espectro de poder del canto de *E. calcaratus* indican el segundo (F2) y tercer (F3) armónicos. El espectro de poder se calculó en todos los casos con un tamaño de ventana de 3170 puntos (resolución de frecuencia = 13,9 Hz).

B.1. Experimentos de propagación de sonidos desde las cuevas.

Para los experimentos de propagación se reprodujo el archivo de audio desde un Ipod nano (Apple Inc., USA) conectado a un amplificador cuya salida alimentaba un pequeño parlante elipsoidal de 2,0 y 2,5 cm de diámetro (extraído de un celular marca Samsung modelo SGH M310) que obturaba un cilindro de goma de 2 cm de largo, relleno con lana mineral para disminuir resonancias. Se utilizaron en el curso de los experimentos dos parlantes cuya respuesta a frecuencia medida en una cámara semianecoica con un micrófono (Sennheiser MKE 2, con fuente de poder K6) ubicado a 25 cm fue de ± 10 y ± 12 dB para frecuencias entre 0,3 y 0,7 kHz en cada parlante y

de ± 7 dB para frecuencias entre 0,8 y 5 kHz en ambos parlantes. Para cada experimento se ubicó el parlante al interior y en el borde de cuevas de *E. calcaratus* y *E. emiliopugini*. Para la posición en el borde de la cueva, la superficie activa del parlante se encontraba en el plano del borde y la posición al interior de la cueva era similar a la ubicación en que se encontraba cantando un macho residente durante las noches previas a los experimentos (1 – 8 cm por dentro del borde) y dependía del nivel de agua al interior de la cavidad. Las señales emitidas por el parlante ubicado en ambas posiciones de la cueva fueron registradas utilizando seis micrófonos pequeños (Sennheiser MKE 2, con fuentes de poder K6) ubicados a 0, 6,25; 12,5; 25; 50 y 100 cm del borde de la cueva y conectados simultáneamente a una grabadora digital de seis canales (Tascam DR-680) (Figura 2). La cara sensible del micrófono ubicado a 0 cm se encontraba a una distancia de 0,2 – 0,3 cm de la superficie activa del parlante cuando este se ubicó en el borde de la cueva. Para los registros realizados en una determinada cueva se utilizó el mismo parlante que se ubicaba en ambas posiciones de emisión, al interior y en el borde de la cavidad.

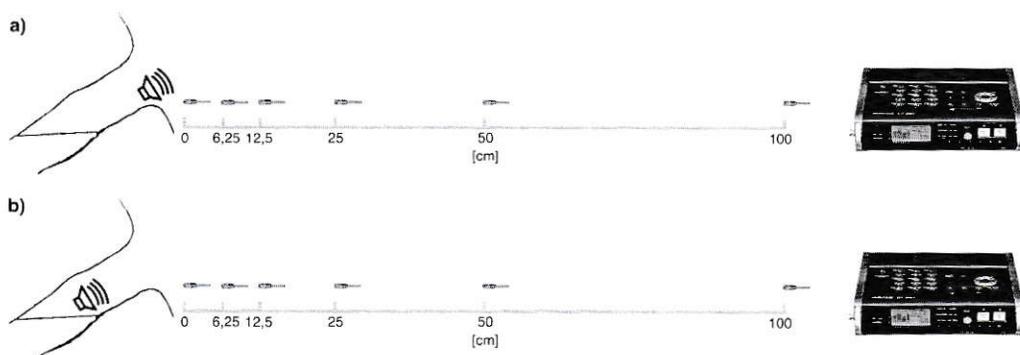


Figura 2. Ubicación del parlante y los micrófonos durante experimentos de propagación. a) parlante en el borde de la cueva y b) parlante al interior de la cueva.

B.2. Experimentos de recepción de sonidos al interior de las cuevas.

Las mismas cuevas utilizadas para los experimentos de propagación fueron posteriormente utilizadas para los experimentos de recepción, los cuales se realizaron el día después de los primeros, asegurando así que las características físicas de las cuevas y el ambiente circundante no experimentaran cambios entre ambos experimentos. Para los experimentos de recepción se reprodujo el archivo de audio desde un Ipod nano (Apple Inc., USA) conectado a un atenuador y un amplificador cuya salida alimentaba un parlante de 10 cm de diámetro (Versatec) ubicado externamente a una distancia de 65 - 70 cm del borde de la cueva. La respuesta a frecuencias de este parlante, medida en un espacio libre con el micrófono de un sonómetro (Bruel & Kjaer 2250) ubicado a 1 m fue de ± 6 dB para frecuencias entre 0,5 y 5 kHz. Las señales fueron registradas por dos micrófonos pequeños (RadioShack 33-3013) ubicados simultáneamente en el borde y al interior de las cuevas y conectados a una grabadora digital (Tascam DR-100). El micrófono al interior de la cueva se ubicaba en una posición similar a la que se utilizó para el parlante al interior de la cueva en los experimentos de propagación y el micrófono externo se ubicaba a una distancia de 2- 4 cm del borde de la cueva, con el eje del micrófono orientado en la misma dirección que el micrófono interno (Figura 3). Ambos experimentos de *playback* fueron realizados entre las 09:00 y las 21:00 horas, antes del comienzo de la actividad vocal de las especies nativas, evitando así estas interferencias en los registros.

En general, las condiciones atmosféricas se mantuvieron estables durante la realización de los experimentos. Ocasionalmente ocurrieron ligeras ráfagas de viento, periodo durante el cual se suspendieron los registros. Otras variables atmosféricas, tales como la temperatura ambiente y la humedad relativa, tienen un efecto despreciable sobre la propagación de sonidos en el rango de frecuencias estudiado y a

las relativamente cortas distancias a las que fueron registrados (Harris 1966, Penna y col. 2006). Por lo tanto, se asumirá que los resultados de los experimentos de emisión y recepción realizados durante el día aplicarán también a la noche.

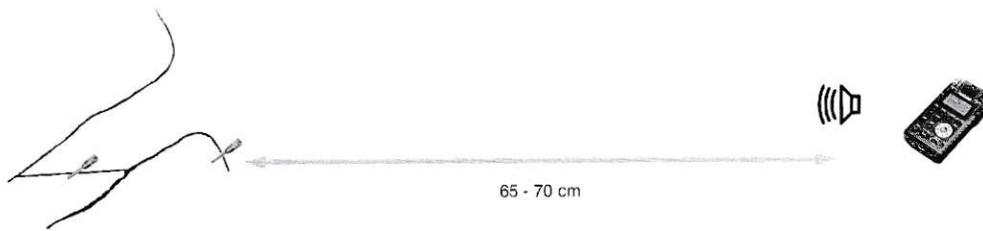


Figura 3. Ubicación de los micrófonos y el parlante utilizado durante experimentos de recepción.

B.3. Experimentos de recepción de cantos de vecinos al interior de las cuevas.

Además de los experimentos de *playback*, se realizaron registros de cantos naturales. Para esto se ubicaron dos micrófonos pequeños (RadioShack 33-3013) en la misma posición utilizada para los experimentos de recepción, pero en vez de registrar los cantos emitidos por el parlante se registraron los cantos de vecinos próximos durante interacciones vocales naturales. Estos registros fueron realizados entre las 21:00 y las 24:00 horas, periodo durante el cual los anfibios presentes en la localidad de estudio se encuentran vocalmente activos.

Para cada cueva en la cual se realizaron experimentos se midió el diámetro de la entrada (cm), la longitud del segmento libre de agua (cm) y el largo total (cm) al centímetro más cercano y se registró la inclinación del eje de la cueva respecto a la horizontal ($^{\circ}$). Luego de cada sesión de grabación los micrófonos fueron calibrados,

para esto se registró en la grabadora utilizada para los registros el tono de 1 kHz de 93,8 dB emitido por un calibrador (Brüel y Kjaer 4231) utilizando la misma sensibilidad a la que se realizaron los registros.

C) Análisis de las señales.

Se aplicó a todos los registros realizados un filtro eliminador de banda ("*band-stop*") entre 0 y 200 Hz para eliminar ruidos de baja frecuencia que pudieran interferir con los análisis, y se midió la amplitud cuadrática media ("*root mean square*", RMS en adelante) de las señales utilizando el software Raven Pro 1.4 (Cornell Lab of Ornithology, NY, USA). El nivel de presión sonora ("*sound pressure level*", SPL en adelante) de las señales registradas se determinó en relación al SPL del tono de calibración.

Para los experimentos de propagación se promedió la amplitud RMS de cinco cantos o pulsos de canto de cada individuo en cada posición del parlante y a cada distancia registrada y se obtuvo el SPL (dB re. 20 μ Pa) correspondiente. Para los tonos se hizo una única medición para cada cueva en cada posición de los micrófonos y del parlante. Para medir la amplificación de las señales producida por el efecto de las cuevas, se calculó la razón entre la amplitud RMS de las señales (tonos y cantos) emitidas con el parlante ubicado en el interior y en el borde de las cuevas para cada posición de los micrófonos (0; 6,25; 12,5; 25; 50 y 100 cm) y con este valor se calcularon los decibeles de amplificación utilizando la ecuación: Razón entre las amplitudes adentro/borde (dB SPL RMS) = $20 \cdot \log_{10}(\text{Amplitud RMS}_{(\text{adentro})} / \text{Amplitud RMS}_{(\text{borde})})$. Con los valores de SPL se calculó el exceso de atenuación como una medida de la efectividad de la propagación del sonido. El cálculo se limitó a las señales registradas a 50 y 100 cm del borde de la cueva en relación a los registros a 25 cm, ya

que las mediciones a distancias más cortas se encontraban en el campo cercano para la mayor parte de las frecuencias y en esta condición la atenuación no corresponde a lo esperado por la propagación esférica del sonido. Para las mediciones a 50 y 100 cm primero se calculó el valor predicho por la propagación esférica utilizando la ecuación: Pérdida por propagación esférica (dB) = $20 \cdot \log_{10}[\text{distancia lejana (cm)} / 25 \text{ (cm)}]$. Este valor se sustrajo de la diferencia entre los valores de SPL medidos a 25 cm del borde de la cueva y aquellos medidos a 50 y 100 cm.

Para el análisis de los experimentos de recepción se promedió la amplitud RMS de los cinco cantos o pulsos de canto de cada individuo y se obtuvo el SPL (dB re. 20 μ Pa) correspondiente, mientras que para los tonos se hizo una única medición para cada cueva y para cada posición de los micrófonos. A partir de los datos obtenidos de los experimentos de recepción de tonos se calculó el factor de calidad Q (Bennet-Clark 1999) de cada cueva individual utilizando la ecuación: $Q = \text{frecuencia resonante (kHz)} / \text{ancho de banda a -3 dB (kHz)}$; donde la frecuencia resonante corresponde a la frecuencia para la cual la amplificación fue máxima. Este factor es una medida adimensional de la pureza tonal a la cual resuena un determinado sistema acústico (Daws y col. 1996), de manera que valores de Q relativamente altos indicarían que los refugios ocupados por ambas especies de *Eupsophus* amplifican sonidos contenidos en una estrecha banda de frecuencia.

Para los experimentos de recepción mediante *playback* y de cantos registrados durante interacciones naturales, se calculó la razón entre la amplitud RMS de las señales registradas con los micrófonos ubicado al interior y en el exterior de las cuevas y se obtuvo el valor de amplificación en decibeles utilizando la misma ecuación que para los experimentos de emisión.

D) Análisis estadístico.

Todas las figuras y los análisis estadísticos fueron realizados en R (versión 3.0.2; R Core Team, 2013). El cálculo de promedios para la elaboración de figuras y tablas se realizó transformando los valores en dB a escala lineal (N/m^2) y los promedios obtenidos fueron posteriormente re-transformados a dB. La desviación estándar presentada en figuras y tablas se obtuvo utilizando el paquete *seewave* (versión 1.7.3; Sueur y col. 2008).

Las cuevas pertenecientes a *E. calcaratus* y *E. emiliopugini* fueron analizadas por separado. Para el análisis de cada experimento se ajustaron modelos lineales mixtos mediante máxima verosimilitud ("*maximum likelihood*") utilizando el paquete *lme4* (versión 1.0-6; Bates y col. 2014). En todos los modelos la variable dependiente (ya sea la razón entre las amplitudes o el exceso de atenuación) se incluyó en escala lineal (N/m^2) y de ser necesario fue transformada para cumplir los supuestos de normalidad y homocedasticidad de los residuales, los cuales fueron evaluados gráficamente. Los modelos se detallan a continuación.

D.1. Experimentos de propagación de sonidos desde las cuevas.

Para el análisis de los experimentos de propagación de tonos y cantos se excluyeron los registros realizados con el micrófono ubicado a 0 cm, debido a que cuando el parlante se encontraba en el borde de la cueva la cercanía entre éste y el micrófono determinaba que en promedio la razón entre la amplitud adentro/borde (dB) fuese consistentemente menor a cero. Para el análisis de la amplificación de tonos se ajustó un modelo lineal mixto que incluyó los efectos fijos de la distancia (6,25; 12,5; 25; 50 y 100 cm) y de la frecuencia. Para el análisis del exceso de atenuación de los

tonos se ajustó un segundo modelo lineal mixto que incluyó el efecto fijo de la distancia (50 y 100 cm), de la posición del parlante (adentro o borde) y de la frecuencia. La estructura de los efectos aleatorios de los modelos para el análisis de la amplificación y exceso de atenuación de tonos fue la misma, y consistió en un intercepto y una pendiente variable entre cuevas para el efecto de la distancia. Para el análisis de la amplificación de los cantos propagados se ajustó un modelo lineal mixto que incluyó el efecto fijo de la distancia (6,25; 12,5; 25; 50 y 100 cm) y de la especie (*E. calcaratus*, *E. emiliopugini*, *B. antartandica* o *P. thaul*). Para el análisis del exceso de atenuación experimentado por los cantos se ajustó un modelo lineal mixto que incluyó el efecto fijo de la distancia (50 y 100 cm), de la posición del parlante (adentro y borde) y de la especie (*E. calcaratus*, *E. emiliopugini*, *B. antartandica* o *P. thaul*). La estructura de los efectos aleatorios de los modelos para el análisis de la amplificación y exceso de atenuación de cantos fue la misma y consistió en un intercepto y una pendiente aleatorios entre cuevas para el efecto de la distancia y un intercepto aleatorio para cada individuo.

D.2. Experimentos de recepción de sonidos al interior de las cuevas.

Para el análisis de la amplificación de tonos registrados al interior de las cuevas se ajustó un modelo lineal mixto que incluyó como efecto fijo la frecuencia y como efecto aleatorio un intercepto aleatorio para cada cueva. Para el análisis de la amplificación de los cantos durante su recepción al interior de las cuevas se ajustó un modelo lineal mixto que incluyó como efecto fijo la especie (*E. calcaratus*, *E. emiliopugini*, *B. antartandica*, *P. thaul*, *G. nanum* o *S. rufipes*) y como efecto aleatorio un intercepto aleatorio para cada cueva.

En todos los modelos lineales mixtos ajustados para el análisis de los experimentos de propagación se incorporó la distancia como una variable categórica y en los modelos utilizados para el análisis de tonos, tanto para experimentos de propagación como de recepción, se incorporó la frecuencia como un predictor numérico. Las formulas de los modelos lineales mixtos ajustados se muestran en la Tabla 2 utilizando la sintaxis del paquete lme4 en R. Para evaluar la significancia de los efectos fijos en cada modelo se realizaron "*likelihood ratio test*" utilizando el paquete afex (versión 0.9-109; Singmann 2014). Se utilizó el paquete multcomp (versión 1.3.3; Hothorn y col. 2008) para los análisis *post hoc*. Los valores de p de las comparaciones múltiples se ajustaron por la tasa de falso descubrimiento ("*False Discovery Rate*", FDR). Se eligió este procedimiento por sobre otras posibles correcciones (e.g., Bonferroni) debido a que permite controlar el incremento en la probabilidad de cometer error de tipo I asociado a la realización de reiterados análisis estadísticos sin afectar mayormente el poder del análisis (García 2003; Nakagawa 2004; Verhoeven y col. 2005; Pike 2011). Se utilizó un nivel de significancia de $\alpha = 0,05$.

Tabla 2. Estructura de los modelos lineales mixtos utilizados para el análisis de los experimentos de propagación y recepción de señales. Entre paréntesis se encuentran los efectos aleatorios.

Experimento	Señal	Variable dependiente	Modelo
Propagación	Tonos	Razón entre amplitudes	Distancia x Frecuencia + (1 + Distancia Cueva)
	Tonos	Exceso de atenuación	Distancia x Frecuencia x Posicion del parlante + (1 + Distancia Cueva)
	Cantos	Razón entre amplitudes	Distancia x Especie + (1 + Distancia Cueva) + (1 Individuo)
	Cantos	Exceso de atenuación	Distancia x Especie x Posicion del parlante + (1 + Distancia Cueva) + (1 Individuo)
Recepción	Tonos	Razón entre amplitudes	Frecuencia + (1 Cueva)
	Cantos	Razón entre amplitudes	Especie + (1 Cueva)

E) Morfología de las cuevas.

Para los experimentos de propagación y de recepción de tonos se evaluó la relación entre las dimensiones de cada cueva (diámetro, largo total y la longitud del segmento libre de agua) y su frecuencia resonante mediante el ajuste de regresiones. Para los cantos se ajustaron regresiones entre la razón adentro/borde (dB) promedio para el canto de cada especie en cada cueva y las dimensiones de las cuevas. Para limitar el número de regresiones a ajustar, se decidió utilizar sólo los registros realizados a una distancia (25 cm) en el análisis.

RESULTADOS

Se realizaron experimentos en un total de 24 cuevas, 12 pertenecientes a *E. emiliopugini* y 12 a *E. calcaratus*. En general, la morfología de las cuevas utilizadas por los machos de ambas especies fue similar, no encontrándose diferencias entre la longitud del segmento libre de agua (Prueba de *t* para dos muestras, $t = -1,06$; $gl = 22$; $p = 0,30$) ni el diámetro (Prueba de *t* para dos muestras, $t = -0,48$; $gl = 22$; $p = 0,64$), pero si en el largo total, que resultó mayor para las cavidades ocupadas por *E. emiliopugini* (Prueba de *t* para dos muestras, $t = -2,75$; $gl = 22$; $p = 0,012$). La mayoría de las cuevas de *E. emiliopugini* (8 de 12) y de *E. calcaratus* (9 de 12) se encontraban inclinadas en ángulos mayores a 45° respecto al plano horizontal. En la Tabla 3 se resumen las dimensiones de las cuevas de ambas especies.

Tabla 3. Dimensiones de las cuevas de ambas especies de *Eupsophus*. Los valores en la tabla corresponden al promedio \pm desviación estándar y el número de cuevas en cada intervalo de inclinación con respecto a la horizontal.

Cueva de:	Largo total (cm)	Longitud del segmento libre de agua (cm)	Diámetro (cm)	Inclinación ($^\circ$)	
				[0 - 45]	[60 - 90]
<i>E. emiliopugini</i>	15,00 \pm 3,49	7,08 \pm 3,15	3,42 \pm 0,79	4	8
<i>E. calcaratus</i>	11,75 \pm 2,14	5,83 \pm 2,58	3,58 \pm 0,90	3	9

A) Experimentos de propagación de sonidos desde las cuevas.

Tonos

Tanto las cuevas de *E. emiliopugini* como las de *E. calcaratus* presentaron variación en las frecuencias que fueron amplificadas. Algunos de estos refugios

exhibieron un máximo de amplificación a frecuencias bien determinadas (Figura 4a,c), mientras otros no presentaron un máximo claramente reconocible (Figura 4b,d).

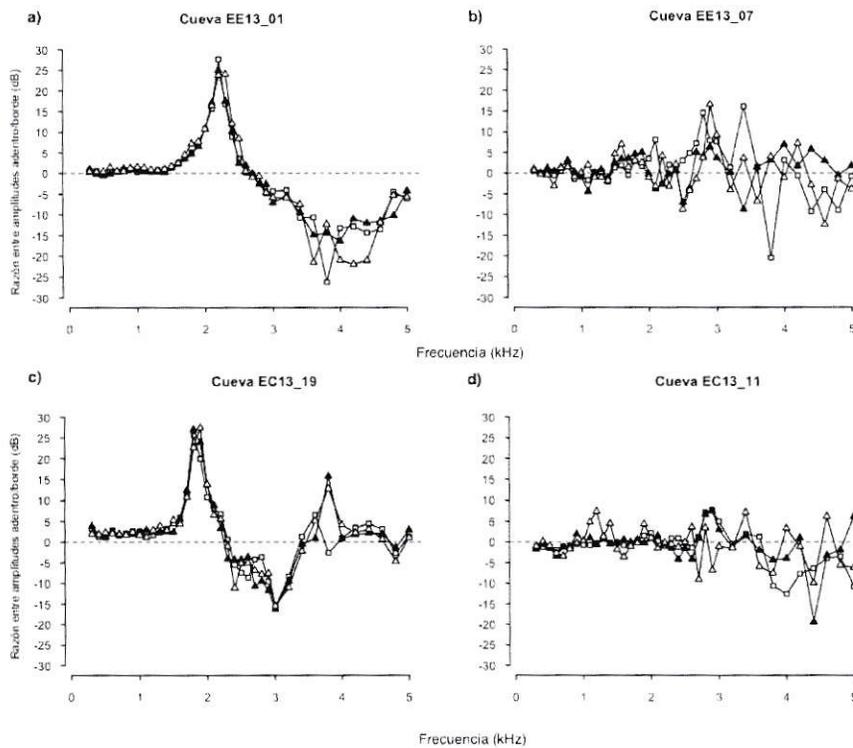


Figura 4. Razón entre las amplitudes (dB) de tonos puros emitidos por un parlante ubicado adentro y en el borde de dos cuevas de *E. emiliopugini* (a, b) y *E. calcaratus* (c, d). Los símbolos representan los tonos medidos a 25 (cuadrados blancos); 50 (triángulos negros) y 100 cm (triángulos blancos) del borde de las cuevas. Por simplicidad no se muestran los valores de los registros a 6,25 y 12,5 cm.

La emisión de tonos desde cuevas de *E. emiliopugini* mostró que en promedio frecuencias bajo aproximadamente 1,0 kHz experimentan amplificación positiva y menor a 5 dB, observándose un incremento lineal en la magnitud de la amplificación para frecuencias entre 1,0 - 1,2 kHz, alcanzando un máximo de aproximadamente 11 – 14 dB para frecuencias entre 1,3 – 1,5 kHz. Un máximo de amplificación (17,5 dB) se

observó para el tono de 1,4 kHz medido a 50 cm. Para tonos entre 1,7 – 2,1 kHz la amplificación decreció, alcanzando valores inferiores a 10 dB. Un segundo máximo de amplificación se observó entre 2,2 – 2,3 kHz con amplificaciones entre aproximadamente 11 – 12 dB. Finalmente, la magnitud de la amplificación decayó progresivamente para tonos entre 2,4 - 3,2 kHz y se observaron amplificaciones negativas para tonos entre 3,3 – 5,0 kHz (Figura 5a). Los tonos emitidos en cuevas de *E. calcaratus* presentaron amplificación positiva e inferior a 6 dB para frecuencias entre 0,3 y 1,6 kHz, observándose un incremento abrupto en la amplificación hasta valores de aproximadamente 11 – 15 dB para frecuencias entre 1,8 - 2,1 kHz. Frecuencias entre 2,5 – 5,0 kHz experimentaron amplificaciones bajas, inferiores a 6 dB o negativas, dependiendo de la distancia y de la frecuencia (Figura 5b).

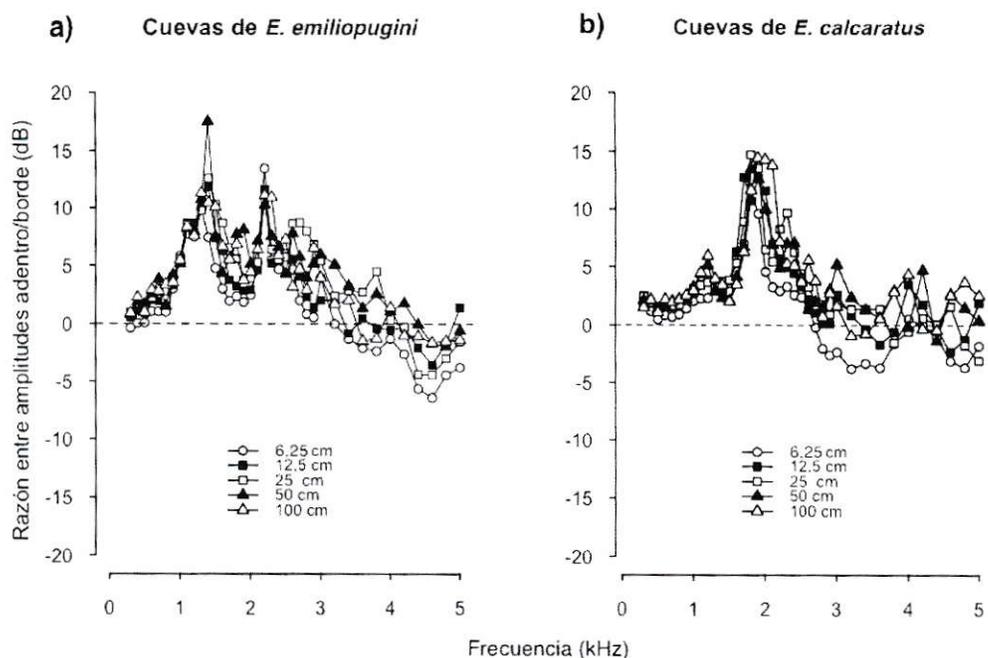


Figura 5. Razón entre las amplitudes (dB) de tonos puros emitidos por un parlante adentro y en el borde de cuevas de *E. emiliopugini* (a) y cuevas de *E. calcaratus* (b). Los símbolos representan el promedio para cada frecuencia medida a 6,25 (círculos blancos); 12,5 (cuadrados negros); 25 (cuadrados blancos); 50 (triángulos negros) y 100 cm (triángulos blancos) del borde de las cuevas. La amplificación máxima de los tonos emitidos en cuevas de *E. emiliopugini* fue de 13,5 dB (2,2 kHz); 11,9 dB (1,4 kHz); 12,6 dB (1,4 kHz); 17,5 dB (1,4 kHz) y 11,3 dB (1,3 kHz) a 6,25, 12,5, 25, 50 y 100 cm respectivamente, mientras que en cuevas de *E. calcaratus* fue de 11,6 dB (1,8 kHz); 12,8 dB (1,7 kHz); 14,7 dB (1,8 kHz); 13,6 dB (1,8 kHz) y 14,5 dB (1,9 kHz) a 6,25, 12,5, 25, 50 y 100 cm respectivamente.

El ajuste de modelos lineales mixtos mostró que el efecto de la frecuencia y de la distancia sobre la amplificación experimentada por tonos fue significativo al ser emitidos desde cuevas de *E. emiliopugini* ($\chi^2 = 269,99$; gl = 1; $p < 0,0001$ y $\chi^2 = 11,25$; gl = 4; $p = 0,024$, respectivamente) y *E. calcaratus* ($\chi^2 = 163,94$; gl = 1; $p < 0,0001$ y $\chi^2 = 12,07$; gl = 4; $p < 0,017$, respectivamente). Comparaciones múltiples entre las distancias mostraron que en cuevas de ambas especies la amplificación de los tonos a

6,25 cm fue menor que a las distancias más lejanas ($p < 0,05$, para todas las comparaciones en ambos tipos de cuevas), no habiendo diferencias significativas en el resto de las comparaciones (ver Anexo, Tabla A1). La interacción entre frecuencia y distancia no fue significativa para los tonos emitidos desde las cuevas de *E. emiliopugini* ($\chi^2 = 5,11$; gl = 4; $p = 0,275$) y alcanzó valores marginales en las de *E. calcaratus* ($\chi^2 = 9,35$; gl = 4; $p = 0,053$).

El ajuste de regresiones entre la longitud del segmento libre de agua, el diámetro y el largo total de cuevas de ambas especies de *Eupsophus* y las frecuencias de tonos a las cuales la amplificación fue máxima para los registros a 25 cm no mostró una asociación significativa ($p > 0,05$, para todas las regresiones en ambos tipos de cuevas).

Los patrones de exceso de atenuación que afectaron a los tonos fueron similares en ambos tipos de cuevas, siendo las frecuencias altas atenuadas en mayor medida que frecuencias bajas (Figura 6). Frecuencias entre 0,3 - 2,0 kHz presentaron en promedio excesos de atenuación similares para tonos emitidos desde el interior y borde de las cuevas y para ambas distancias. En general, frecuencias mayores a 2,0 kHz fueron más atenuadas a 100 cm en comparación con las mismas frecuencias a 50 cm. El análisis mediante modelos lineales mixtos mostró que la emisión de los tonos con el parlante ubicado al interior de las cuevas de ambas especies de *Eupsophus* no aumentó la eficiencia de propagación (i.e., menor exceso de atenuación) respecto a cuando el parlante se ubicó en el borde (*E. emiliopugini*: $\chi^2 = 0,70$; gl = 1; $p = 0,403$ y *E. calcaratus*: $\chi^2 = 0,89$; gl = 1; $p = 0,346$). La interacción entre el efecto de la distancia y la frecuencia fue significativa, tanto en cuevas de *E. emiliopugini* ($\chi^2 = 81,63$; gl = 1; $p < 0,0001$) como de *E. calcaratus* ($\chi^2 = 53,09$; gl = 1; $p < 0,0001$), mientras que la

interacción entre frecuencia y posición del parlante fue marginalmente significativa en cuevas de *E. emiliopugini* ($\chi^2 = 3,44$; gl = 1; p = 0,064). El resto de las interacciones entre efectos fijos no fueron significativas en ningún tipo de cueva (Ver Anexo, Tabla A2).

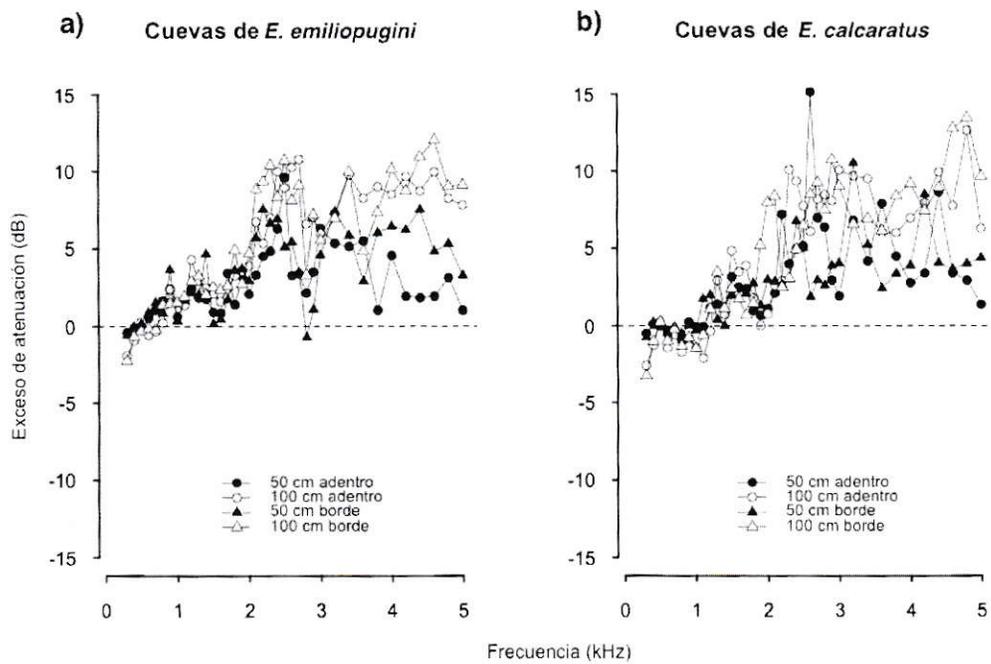


Figura 6. Exceso de atenuación (dB) experimentalizado por tonos puros emitidos desde cuevas de *E. emiliopugini* (a) y *E. calcaratus* (b). Los símbolos rellenos y vacíos indican el exceso de atenuación a 50 y 100 cm, respectivamente. Círculos y triángulos corresponden a tonos emitidos desde el interior y el borde de las cuevas, respectivamente.

Cantos

En promedio, los cantos de las cuatro especies de anfibios fueron amplificadas al ser emitidos desde cuevas de *E. calcaratus* y de *E. emiliopugini* y a todas las distancias a las cuales fueron registrados (Figura 7). En la Tabla 4 se resumen los valores de la razón entre las amplitudes (dB) de los cantos emitidos por un parlante ubicado adentro y en el borde de las cuevas

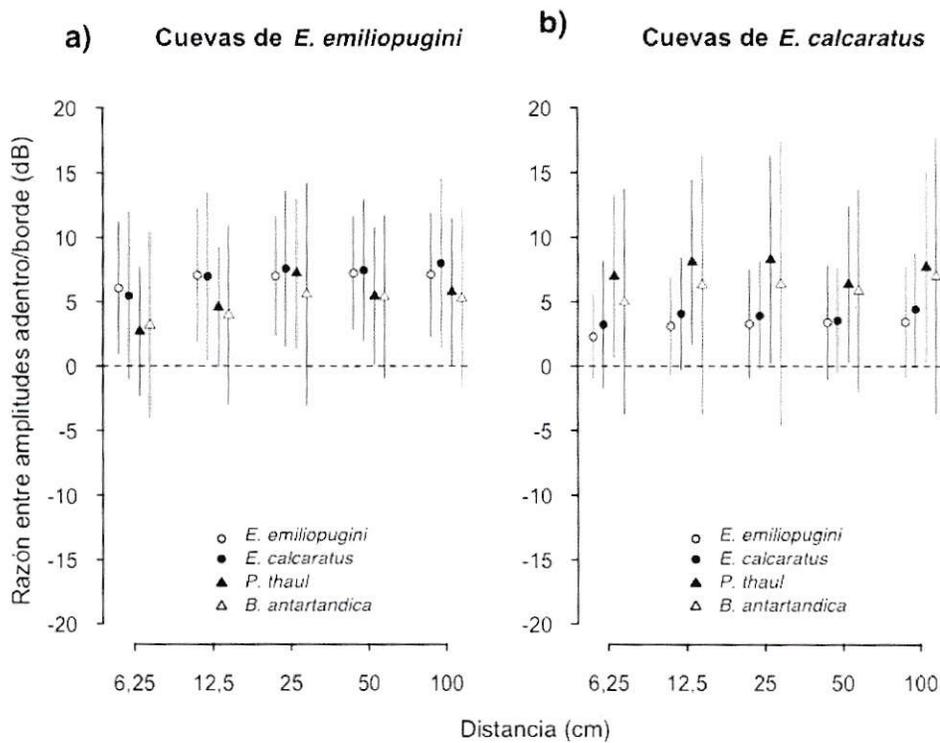


Figura 7. Razón entre las amplitudes (dB) de cantos emitidos por un parlante ubicado adentro y en el borde de cuevas de *E. emiliopugini* (a) y *E. calcaratus* (b). Cantos de *E. emiliopugini* (círculos blancos), *E. calcaratus* (círculos negros), *B. antartandica* (triángulos blancos) y *P. thaul* (triángulos negros) registrados a 6,25; 12,5; 25; 50 y 100 cm. Los símbolos y barras indican el promedio y desviación estándar, respectivamente.

Tabla 4. Razón entre las amplitudes (dB) de cantos de cuatro especies de anfibios emitidos por un parlante ubicado adentro y en el borde de cuevas de *E. emiliopugini* y *E. calcaratus*, registrados a varias distancias del borde de estos refugios. Los valores en la tabla corresponden a promedio \pm desviación estándar.

Cueva de:	Distancia (cm)	Razón entre amplitudes adentro/borde (dB)			
		<i>E. emiliopugini</i>	<i>E. calcaratus</i>	<i>P. thaul</i>	<i>B. antartandica</i>
<i>E. emiliopugini</i>	6,25	6,07 \pm 5,15	5,48 \pm 6,53	2,70 \pm 7,24	3,17 \pm 5,02
	12,5	7,07 \pm 5,16	6,99 \pm 6,50	4,56 \pm 6,94	3,96 \pm 4,68
	25	7,01 \pm 4,63	7,58 \pm 6,06	7,22 \pm 8,62	5,58 \pm 5,83
	50	7,22 \pm 4,41	7,45 \pm 5,49	5,44 \pm 6,32	5,37 \pm 5,33
	100	7,11 \pm 4,81	7,99 \pm 6,59	5,77 \pm 6,89	5,26 \pm 5,67
<i>E. calcaratus</i>	6,25	2,28 \pm 3,25	3,21 \pm 4,93	6,97 \pm 8,72	4,97 \pm 6,28
	12,5	3,09 \pm 3,80	4,06 \pm 4,36	8,08 \pm 10,05	6,29 \pm 6,38
	25	3,27 \pm 4,25	3,90 \pm 4,18	8,25 \pm 11,00	6,36 \pm 7,98
	50	3,39 \pm 4,42	3,53 \pm 4,05	6,34 \pm 7,87	5,83 \pm 6,03
	100	3,42 \pm 4,34	4,40 \pm 4,36	7,68 \pm 10,61	6,95 \pm 7,33

La amplificación experimentada por los cantos difirió entre las cuatro especies al ser estos emitidos desde cuevas de *E. emiliopugini* ($\chi^2 = 92,20$; gl = 3; $p < 0,0001$) y de *E. calcaratus* ($\chi^2 = 32,94$; gl = 3; $p < 0,0001$). En cuevas de *E. emiliopugini*, las comparaciones planeadas mostraron que la amplificación que afectó a los cantos conespecíficos fue mayor que la de los cantos de *P. thaul* ($z = 13,46$; $p < 0,0001$) y de *B. antartandica* ($z = 9,91$; $p < 0,0001$), pero no difirió de la experimentada por los cantos de *E. calcaratus* ($z = 1,64$; $p = 0,1001$), mientras que en cuevas de *E. calcaratus* la amplificación de cantos conespecíficos fue menor que la experimentada por los cantos de *P. thaul* ($z = -3,76$; $p = 0,0002$) y que los de *B. antartandica* ($z = -3,97$; $p = 0,0002$), pero no difirió de la amplificación experimentada por cantos de *E. emiliopugini* ($z = 1,77$; $p = 0,0772$). El efecto de la distancia no fue significativo sobre la amplificación de los cantos en cuevas de ambas especies de *Eupsophus* (*E.*

emiliopugini: $\chi^2 = 7,34$; gl = 4; p = 0,12 y *E. calcaratus*: $\chi^2 = 7,48$; gl = 4; p = 0,11) y la interacción entre especie y distancia no fue significativa en cuevas de *E. emiliopugini* ($\chi^2 = 16,94$; gl = 12; p = 0,15) ni de *E. calcaratus* ($\chi^2 = 17,29$; gl = 12; p = 0,14).

No se encontró asociación entre la amplificación que afecta a los cantos de las cuatro especies de anfibios emitidos desde cuevas de *E. emiliopugini* y registrados a 25 cm con el largo total, la longitud del segmento libre de agua y el diámetro de las cuevas (p > 0,05 en todos los casos). Por otro lado, en cuevas de *E. calcaratus* se encontró una relación cuadrática significativa ($r^2 = 0,62$; F = 7,44; gl = 2,9; p = 0,012) entre la amplificación que experimentaron los cantos de *E. calcaratus* registrados a 25 cm con la longitud del segmento libre de agua de estas cavidades (Figura 8). No obstante, una de las cuevas ocupadas por esta especie presentó una longitud del segmento libre de agua de 12 cm, valor que es anormalmente mayor respecto al resto de las cuevas, cuyas longitudes del segmento libre de agua fueron menores a 8 cm. Si se elimina esta cavidad del análisis, se obtiene que la relación entre la longitud del segmento libre de agua de las cuevas de *E. calcaratus* y la amplificación de los cantos conespecíficos es lineal y positiva ($r^2 = 0,62$; F = 14,82; gl = 1,9; p = 0,0039) (Figura 8). No se encontró asociación entre la longitud del segmento libre de agua y la amplificación que afectó los cantos de las otras tres especies de anfibios (p > 0,05 en todos los casos).

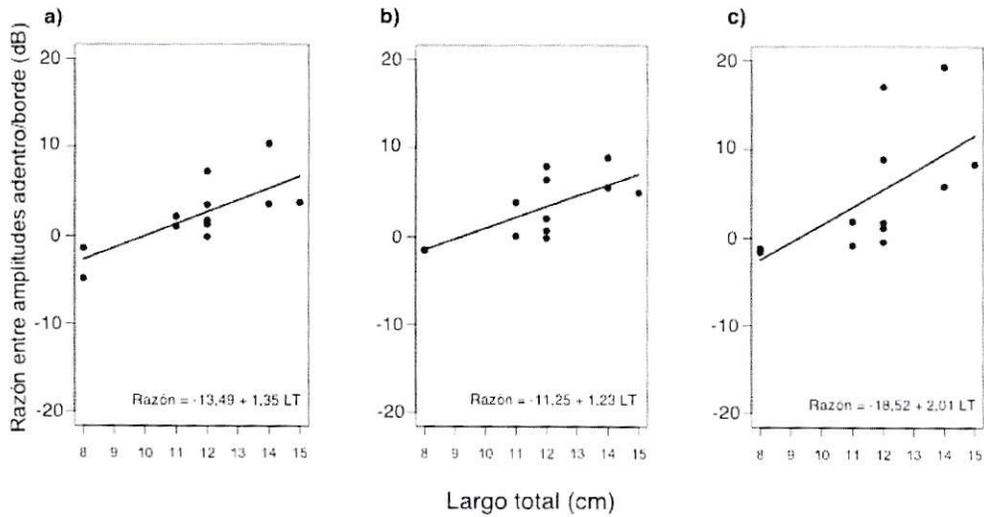


Figura 9. Regresión lineal entre el largo total (cm) y la razón entre las amplitudes (dB) de cantos emitidos por un parlante ubicado adentro y en el borde de cuevas de *E. calcaratus* y registrados a 25 cm. Cantos de *E. emiliopugini* (a), *E. calcaratus* (b) y *P. thaul* (c). Cada punto representa el promedio de los cantos de cada especie medidos en una cueva.

En general, los cantos de las cuatro especies de anfibios estudiadas presentaron excesos de atenuación en promedio positivos y menores a 3 dB al ser emitidos desde cuevas de *E. emiliopugini* y *E. calcaratus* (Figura 10 y Figura 11). Los cantos de *E. emiliopugini* emitidos desde cuevas de *E. calcaratus* experimentaron, en promedio, excesos de atenuación negativos, aunque cercanos a cero (Figura 11). En la Tabla 5 se resumen los valores de exceso de atenuación de los cantos emitidos en cuevas de ambas especies de *Eupsophus*.

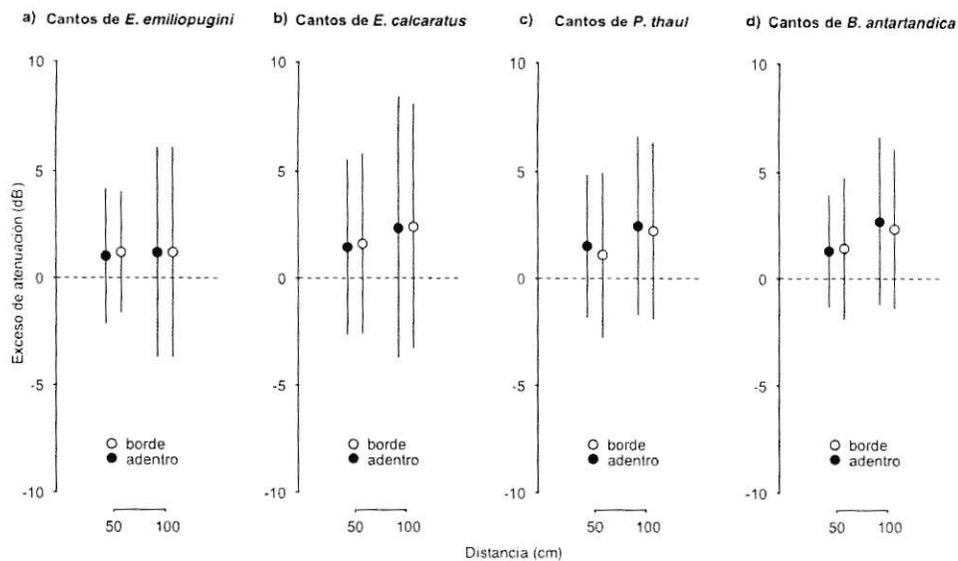


Figura 10. Exceso de atenuación (dB) de cantos de *E. emiliopugini* (a), *E. calcaratus* (b), *P. thaul* (c) y *B. antartandica* (d) al ser emitidos desde el interior (círculos negros) y el borde (círculos blancos) de cuevas de *E. emiliopugini*. Los símbolos y barras indican el promedio y desviación estándar, respectivamente.

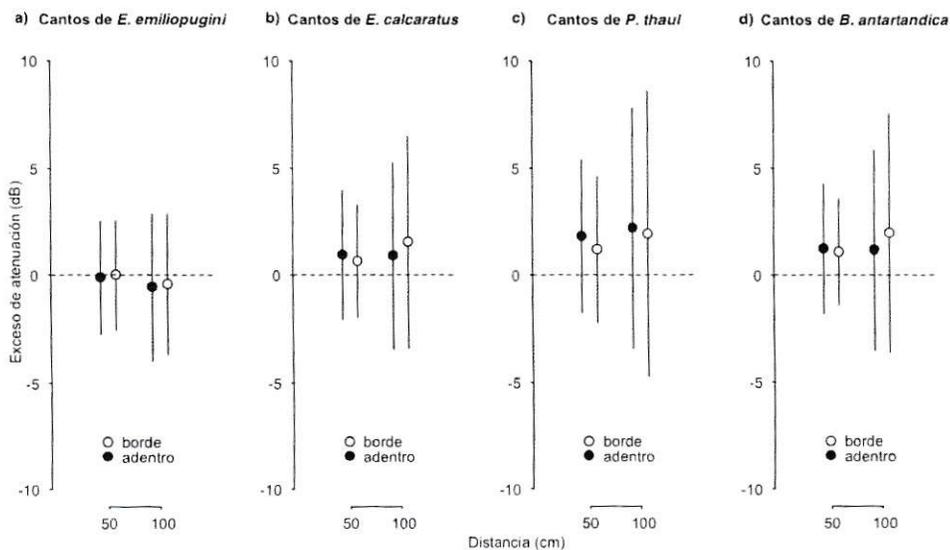


Figura 11. Exceso de atenuación (dB) de cantos de *E. emiliopugini* (a), *E. calcaratus* (b), *P. thaul* (c) y *B. antartandica* (d) al ser emitidos desde el interior (círculos negros) y en borde (círculos blancos) de cuevas de *E. calcaratus*. Los símbolos y barras indican el promedio y desviación estándar, respectivamente.

Tabla 5. Exceso de atenuación (dB) de cantos de cuatro especies de anfibios emitidos desde cuevas de *E. calcaratus* y *E. emiliopugini*, medidos a 50 y 100 cm del borde de las cuevas. Los valores en la tabla corresponden a promedio \pm desviación estándar.

Cueva de:	Canto	Distancia (cm)	Exceso de atenuación (dB)		
			Adentro	Borde	
<i>E. emiliopugini</i>	<i>E. emiliopugini</i>	50	1,03 \pm 3,16	1,21 \pm 2,84	
		100	1,20 \pm 4,89	1,21 \pm 4,90	
	<i>E. calcaratus</i>	50	1,45 \pm 4,09	1,61 \pm 4,21	
		100	2,36 \pm 6,07	2,42 \pm 5,69	
	<i>P. thaul</i>	50	1,52 \pm 3,33	1,11 \pm 3,87	
		100	2,47 \pm 4,18	2,23 \pm 4,12	
	<i>B. antartandica</i>	50	1,30 \pm 2,64	1,42 \pm 3,32	
		100	2,69 \pm 3,92	2,34 \pm 3,75	
	<i>E. calcaratus</i>	<i>E. emiliopugini</i>	50	-0,10 \pm 2,63	0,03 \pm 2,54
			100	-0,54 \pm 3,43	-0,41 \pm 3,27
<i>E. calcaratus</i>		50	0,96 \pm 3,01	0,66 \pm 2,62	
		100	0,92 \pm 4,35	1,55 \pm 4,95	
<i>P. thaul</i>		50	1,82 \pm 3,57	1,20 \pm 3,40	
		100	2,21 \pm 5,62	1,93 \pm 6,67	
<i>B. antartandica</i>		50	1,23 \pm 3,03	1,08 \pm 2,49	
		100	1,18 \pm 4,70	1,97 \pm 5,61	

El exceso de atenuación de los cantos emitidos desde cuevas de *E. emiliopugini* fue afectado por la interacción entre el efecto de la especie y la distancia ($\chi^2 = 36,58$; gl = 3; $p < 0,0001$), pero no por la posición del parlante ($\chi^2 = 0,05$; gl = 1; $p = 0,8160$). Comparaciones planeadas mostraron que a 100 cm los cantos de *E. emiliopugini* fueron significativamente menos atenuados que los cantos de *E. calcaratus* ($z = -4,10$; $p = 0,0001$), *P. thaul* ($z = -5,20$; $p < 0,0001$) y *B. antartandica* ($z = -7,01$; $p < 0,0001$). Sin embargo, no se encontraron diferencias entre la atenuación experimentada por los cantos de las cuatro especies a 50 cm del borde de las cuevas (ver Anexo, Tabla A3). No se encontraron diferencias para la atenuación entre 50 y 100

cm en ninguna de las cuatro especies de anuro (*E. calcaratus*: $z = 0.57$, $p = 0,5675$; *E. emiliopugini*: $z = -0,60$, $p = 0,5675$; *P. thaul*: $z = 1,68$, $p = 0,2165$; *B. antartandica*: $z = 1,61$; $p = 0,2165$).

El exceso de atenuación de los cantos emitidos desde cuevas de *E. calcaratus*, a diferencia de los observado en las cuevas de *E. emiliopugini*, fue afectado por la interacción entre el efecto de la especie y la posición del parlante ($\chi^2 = 14,99$; $gl = 3$; $p = 0,0018$), pero no por la distancia ($\chi^2 = 0,19$; $gl = 1$; $p = 0,6634$). Análisis *post hoc* mostraron que, en general, la emisión de las señales desde el interior de estas cuevas no aumenta la eficiencia de propagación respecto a cuando son emitidas desde el borde, como ocurre para los cantos de *E. emiliopugini* ($z = -1,18$; $p = 0,3383$), *E. calcaratus* ($z = -0,87$; $p = 0,4796$) y *B. antartandica* ($z = -1,94$; $p = 0,1059$). Sin embargo, los cantos de *P. thaul* experimentaron mayor atenuación al ser emitidos desde el interior de estos refugios ($z = 3,09$; $p = 0,0067$). Comparaciones entre la atenuación de los cantos de las cuatro especies emitidos desde el interior de las cuevas mostraron que el exceso de atenuación experimentado por los cantos de *E. calcaratus* fue mayor que el de los cantos de *E. emiliopugini* ($z = 5,88$; $p < 0,0001$), menor que los de *P. thaul* ($z = -2,67$; $p = 0,00187$) y no difirió de la atenuación que afectó a los cantos de *B. antartandica* ($z = -0,50$; $p = 0,6204$). Del mismo modo, las comparaciones entre los cantos de las cuatro especies emitidos desde el borde de las cuevas mostraron que la atenuación experimentada por los cantos de *E. calcaratus* fue mayor que los de *E. emiliopugini* ($z = 5,60$; $p < 0,0001$), pero no difirió de los cantos de *B. antartandica* ($z = -1,52$; $p = 0,2134$) ni *P. thaul* ($z = 0,73$; $p = 0,5161$) (Ver Anexo, Tabla A3).

B) Experimentos de recepción de sonidos al interior de las cuevas.

Tonos

Los tonos puros emitidos desde el exterior hacia cuevas de *E. emiliopugini* muestran patrones de amplificación similares a los observados al ser emitidos con un parlante pequeño desde el interior de estas cavidades. En general, los tonos de frecuencias entre 1,0 – 2,0 kHz experimentaron amplificación de aproximadamente 5 – 13 dB promedio (Figura 12a), mientras que tonos bajo y sobre este rango de frecuencias experimentaron amplificaciones inferiores a 5 dB. Las cuevas ocupadas por esta especie presentaron una frecuencia resonante promedio de $1,5 \pm 0,4$ kHz y un Q promedio de $8,0 \pm 5,3$. En cuevas de *E. calcaratus*, los tonos presentaron tres zonas de mayor amplificación centradas a 1,1 kHz, 1,9 kHz y 2,9 kHz, con amplificaciones máximas de aproximadamente 11, 17 y 13 dB, respectivamente (Figura 12b). Los refugios ocupados por los machos de *E. calcaratus* presentaron una frecuencia resonante promedio de $1,9 \pm 0,7$ kHz y un Q promedio de $19,8 \pm 17,1$. La frecuencia de los tonos puros tuvo un efecto significativo sobre la amplificación que experimentan al ser emitidos hacia cuevas de *E. emiliopugini* ($\chi^2 = 66,28$; gl = 1; $p < 0,0001$) y *E. calcaratus* ($\chi^2 = 32,16$; gl = 1; $p < 0,0001$).

Al igual que en los experimentos de propagación, en los experimentos de recepción de tonos no se encontró una relación significativa entre la longitud del segmento libre de agua, el diámetro y el largo total de cuevas de ambas especies de *Eupsophus* y sus frecuencias resonantes ($p > 0,05$ en todos los casos).

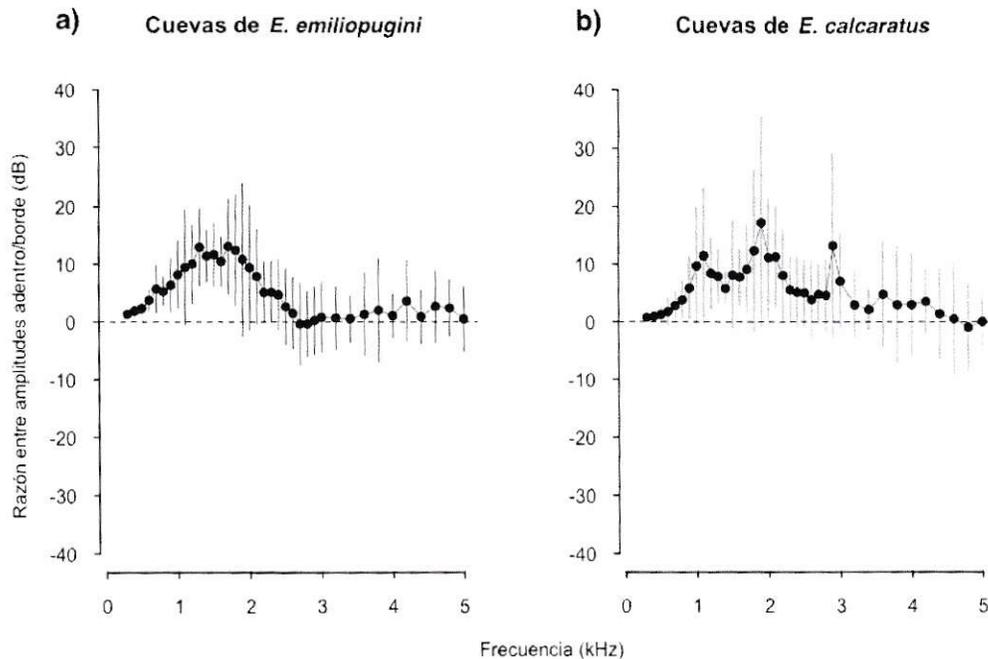


Figura 12. Razón entre las amplitudes (dB) de tonos puros emitidos por un parlante ubicado en el exterior y registrados con un micrófono adentro y otro en el borde de cuevas de *E. emiliopugini* (a) y *E. calcaratus* (b). Los símbolos y barras indican el promedio y desviación estándar, respectivamente.

Cantos

Los cantos de las cuatro especies de anfibios y de las dos especies de aves fueron amplificadas en promedio por sobre 5 dB en cuevas de ambas especies (Figura 13). En la Tabla 6 se resumen los valores de la razón entre amplitudes (dB) de los cantos de las seis especies en ambos tipos de cuevas. La amplificación difirió entre los cantos de las especies cuando fueron emitidos hacia las cuevas de *E. emiliopugini* ($\chi^2 = 86,31$; $gl = 5$; $p < 0,0001$) y *E. calcaratus* ($\chi^2 = 19,05$; $gl = 5$; $p = 0,002$). Las comparaciones planeadas mostraron que en cuevas de *E. emiliopugini* la amplificación

experimentada por los cantos conoespecificos fue menor que los cantos de *E. calcaratus* ($z = -2,88$; $p = 0,0067$), *G. nanum* ($z = -7,20$; $p < 0,0001$) y *P. thaul* ($z = -3,19$; $p = 0,0036$), pero no difirió de los cantos de *B. antartandica* ($z = 0,33$; $p = 0,7407$) ni de *S. rufipes* ($z = 1,71$; $p = 0,1077$). En cuevas de *E. calcaratus* las diferencias en la amplificación experimentada por los cantos de las distintas especies no se encontraban entre las comparaciones definidas *a priori*, en consecuencia la amplificación experimentada por los cantos de *E. calcaratus* no difirió de la experimentada por los cantos de *B. antartandica* ($z = -1,21$; $p = 0,376$), *E. emiliopugini* ($z = 2,12$; $p = 0,120$), *P. thaul* ($z = -1,98$; $p = 0,120$), *G. nanum* ($z = 0,88$; $p = 0,471$) ni *S. rufipes* ($z = 0,61$; $p = 0,545$).

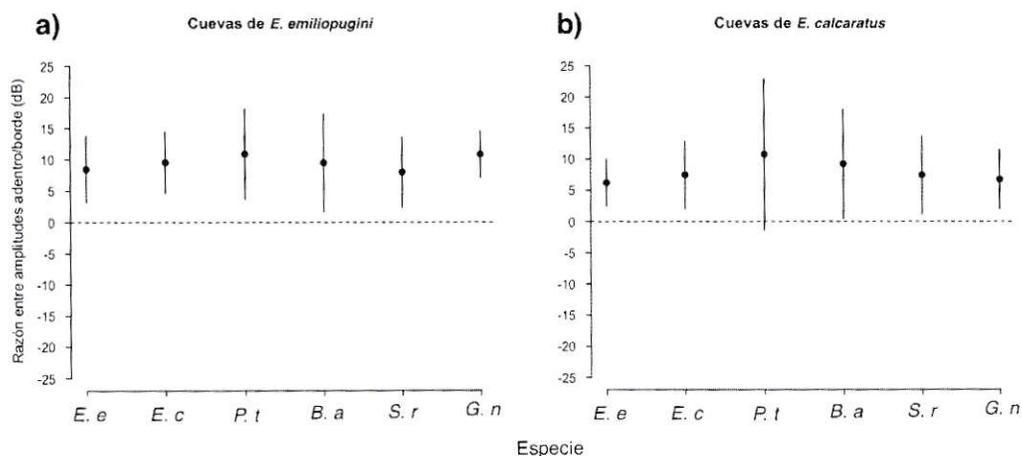


Figura 13. Razón entre las amplitudes (dB) de cantos de varias especies emitidos por un parlante ubicado en el exterior y registrados con un micrófono adentro y en otro en el borde de cuevas de *E. emiliopugini* (a) y *E. calcaratus* (b). Los símbolos y barras indican el promedio y desviación estándar, respectivamente. Abreviaciones: *E. e* = *Eupsophus emiliopugini*, *E. c* = *Eupsophus calcaratus*, *P. t* = *Pleurodema thaul*, *B. a* = *Batrachyla antartandica*, *S. r* = *Strix rufipes* y *G. n* = *Glaucidium nanum*.

Tabla 6. Razón entre las amplitudes (dB) de cantos de varias especies emitidos por un parlante ubicado en el exterior y registrados con un micrófono adentro y en otro en el borde de cuevas de *E. emiliopugini* y *E. calcaratus*. Los valores en la tabla corresponden a promedio \pm desviación estandar.

Cueva de:	Canto	Razón entre amplitudes adentro/borde (dB)
<i>E. emiliopugini</i>	<i>E. emiliopugini</i>	8,47 \pm 5,33
	<i>E. calcaratus</i>	9,56 \pm 4,90
	<i>P. thaul</i>	10,92 \pm 7,20
	<i>B. antartandica</i>	9,50 \pm 7,86
	<i>S. rufipes</i>	8,01 \pm 5,64
	<i>G. nanum</i>	10,86 \pm 3,70
<i>E. calcaratus</i>	<i>E. emiliopugini</i>	6,21 \pm 3,73
	<i>E. calcaratus</i>	7,45 \pm 5,44
	<i>P. thaul</i>	10,75 \pm 12,15
	<i>B. antartandica</i>	9,20 \pm 8,75
	<i>S. rufipes</i>	7,44 \pm 6,24
	<i>G. nanum</i>	6,73 \pm 4,71

Respecto a la asociación entre las dimensiones de las cuevas y la amplificación promedio de las vocalizaciones de cada especie, en cuevas de *E. emiliopugini* sólo se encontró una relación lineal inversa entre la amplificación de los cantos de *S. rufipes* y el largo total de las cuevas ($r^2 = 0,36$; $F = 5,6$; $gl = 1,10$; $p = 0,039$) (Figura 14) y en cuevas de *E. calcaratus* sólo se encontró una relación lineal significativa entre la amplificación experimentada por los cantos de *E. emiliopugini* y el largo total de estas cavidades ($r^2 = 0,38$; $F = 6,04$; $gl = 1,10$; $p = 0,034$) (Figura 15).

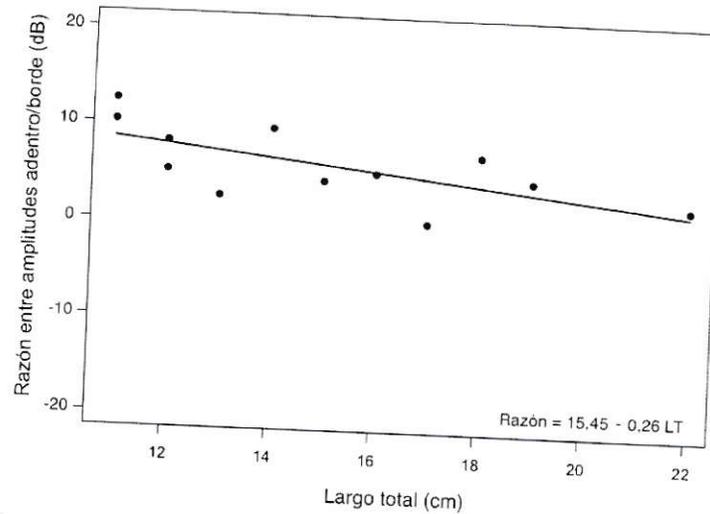


Figura 14: Regresión lineal entre el largo total (cm) y la razón entre las amplitudes (dB) de cantos de *S. rufipes* emitidos por un parlante ubicado en el exterior y registrados con un micrófono adentro y otro en el borde de cuevas de *E. emiliopugini*. Cada punto representa el promedio de los cantos de la especie medidos en una cueva.

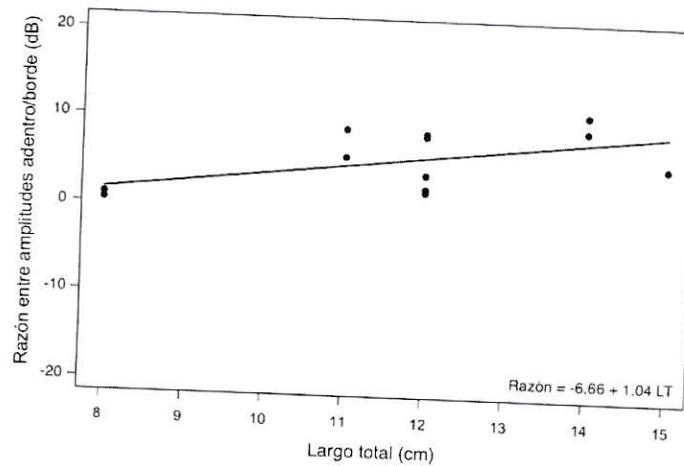


Figura 15. Regresión lineal entre el largo total (cm) y la razón entre las amplitudes (dB) de cantos de *E. emiliopugini* emitidos por un parlante ubicado en el exterior y registrados con un micrófono adentro y otro en el borde de cuevas de *E. calcaratus*. Cada punto representa el promedio de los cantos de la especie medidos en una cueva.

C) Experimentos de recepción de cantos de vecinos al interior de las cuevas.

En cuevas de *E. emiliopugini* se registraron cantos de entre uno y tres individuos de *E. emiliopugini* en once de las doce cuevas y un total de tres individuos de *B. antartandica* en dos de las doce cuevas. Los cantos de estos individuos fueron amplificadas en una magnitud similar a la encontrada mediante experimentos de *playback* (Figura 16; Tabla 7).

En diez de las doce cuevas de *E. calcaratus* se registraron cantos de uno o dos ejemplares de *E. calcaratus* próximos. En promedio, la amplificación de los cantos emitidos por vecinos en estas cuevas fue de aproximadamente 13 dB (Figura 16; Tabla 7).

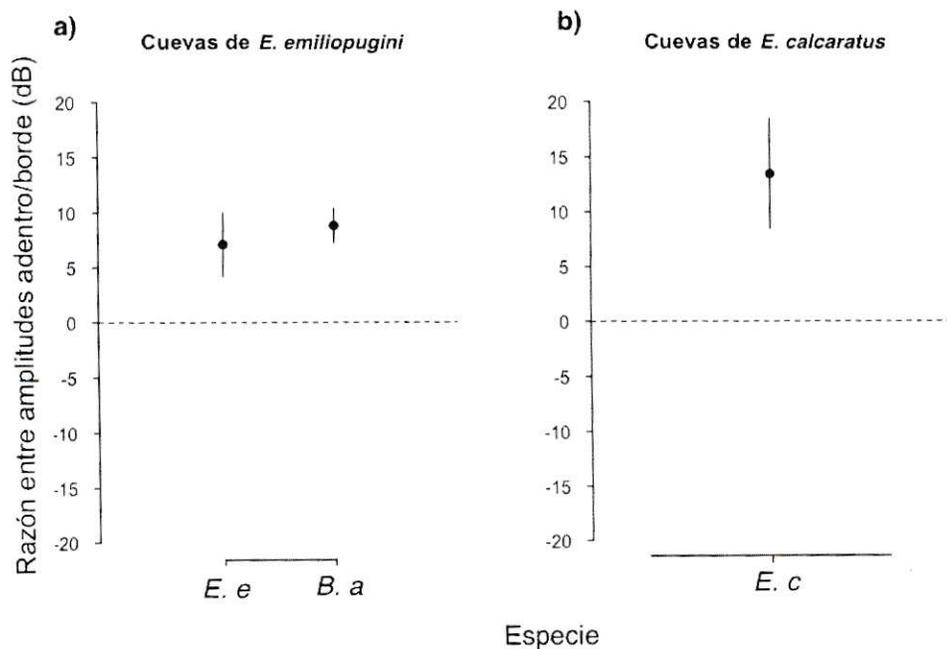


Figura 16. Razón entre las amplitudes (dB) de cantos emitidos durante interacciones naturales registrados en cuevas de a) *E. emiliopugini* y b) *E. calcaratus*. Los símbolos y barras indican el promedio y desviación estándar, respectivamente. Abreviaciones: *E. e* = *Eupsophus emiliopugini*; *B. a* = *Batrachyla antartandica*; *E. c* = *Eupsophus calcaratus*.

Tabla 7. Razón entre las amplitudes (dB) de cantos emitidos durante interacciones naturales y registrados en cuevas de *E. emiliopugini* y *E. calcaratus*. Los valores en la tabla corresponden a promedio \pm desviación estándar.

Cueva de:	Canto	Razón entre amplitudes adentro/borde (dB)
<i>E. emiliopugini</i>	<i>E. emiliopugini</i>	7,09 \pm 2,88
	<i>B. antartandica</i>	8,81 \pm 1,55
<i>E. calcaratus</i>	<i>E. calcaratus</i>	13,44 \pm 5,03

DISCUSIÓN

A) Experimentos de propagación de sonidos desde cuevas.

La amplificación experimentada por los tonos puros emitidos desde el interior de las cuevas utilizadas por ambas especies de *Eupsophus* mostró que las propiedades acústicas de estos refugios son altamente variables entre cuevas individuales. Sin embargo, en promedio los tonos de frecuencias entre 0,5 – 2,0 kHz son amplificados en mayor magnitud que frecuencias fuera de este rango.

La amplificación encontrada para los tonos coincide con la encontrada para los cantos de las cuatro especies de anfibios. Estas vocalizaciones, que contienen sus principales componentes espectrales entre 1,0 – 2,0 kHz, fueron amplificados entre 3 – 8 dB en promedio. Este aumento en la amplitud de los cantos es comparable al que ha sido encontrado en otros animales. Por ejemplo, las vocalizaciones de respuesta de los murciélagos ala de disco (*Thyroptera tricolor*) emitidas desde el interior de hojas cónicas son amplificadas hasta en 6 dB (Chaverri & Gillam 2013) y los cantos de anuncio emitidos por la rana *Kurixalus idiotooocus* son amplificados aproximadamente 5 dB al ser emitidos desde drenajes de concreto (Tan y col. 2014). Otro ejemplo destacable corresponde a los grillos *Scapteriscus acletus* y *Rufoccephalus sp.*, los cuales construyen complejas cavidades que amplifican los cantos emitidos por estos insectos en 24 y 20 dB, respectivamente (Bennet-Clark 1987; Bailey y col. 2001).

La amplificación experimentada por los cantos de las cuatro especies de anuros difirió entre las cuevas de ambas especies de *Eupsophus*. De acuerdo con lo esperado, en las cuevas ocupadas por *E. emiliopugini* los cantos de ambas especies de *Eupsophus* fueron amplificados en mayor magnitud que los cantos de *P. thaul* y *B.*

antartandica. Sin embargo, en cuevas de *E. calcaratus* se encontró el patrón inverso, los cantos de *E. emiliopugini* y *E. calcaratus* fueron menos amplificados que los cantos de *P. thaul* y *B. antartandica*. Esta diferencia se debe probablemente a la alta variabilidad en las propiedades acústicas que presentan estos refugios, habiendo algunos que amplificaron los cantos emitidos desde el interior en más de 10 dB, mientras otros no amplificaron o incluso atenuaron los sonidos emitidos desde el interior. Además, es necesario considerar que la utilización de las cuevas es en parte compartida por ambas especies, debido a que entre temporadas reproductivas un mismo refugio puede ser reutilizado por machos de *E. emiliopugini* y *E. calcaratus*. Por lo tanto, estos resultados deben ser interpretados con cautela, ya que no es posible concluir respecto a las cuevas utilizadas por cada una de las especies en particular. A pesar de lo anterior, es claro que estas cavidades, tanto las que se encontraban ocupadas por machos de *E. emiliopugini* como de *E. calcaratus*, amplifican las señales que desde allí se emiten.

A diferencia de las cuevas utilizadas por los grillos *Scapteriscus acletus* y *Rufoccephalus* sp., la estructura relativamente simple de los refugios utilizados por ambas especies de *Eupsophus* sugiere que los machos no tienen un rol activo en su construcción y que se limitan principalmente al cuidado y mantención de cavidades ya existentes. El hecho que un porcentaje menor de los machos se ubique al interior de refugios que carecen de una estructura definida, como por ejemplo entre raíces de árboles, apoya esta idea. La alta variabilidad en las propiedades acústicas de los refugios utilizados por ambas especies de *Eupsophus*, sumada a la presumible ausencia de una participación activa de los machos en su construcción, sugiere además que estos anfibios, en general, no seleccionan las cuevas que utilizan en base a sus características acústicas. Es posible que los machos seleccionen estos sitios de

reproducción en base a otras variables, no relacionadas directamente con la acústica de estos refugios. Por ejemplo, la rana *Kurixalus eiffingeri* prefiere para la reproducción y posterior ovoposición el interior de los tallos de bambú con un mayor volumen respecto a tallos con un volumen menor (Lin y col. 2008) y los machos de la rana *Ranitomeya biolat* trasladan los renacuajos recién eclosionados preferentemente a inter-nodos de bambú con un alto volumen de agua (von May y col. 2009). Este tipo de selección asociada al nivel de agua incrementaría la probabilidad de sobrevivencia de los renacuajos, ya que volúmenes de agua elevados están asociados a niveles altos de nutrientes y a bajo riesgo de desecación (von May y col. 2009).

El aumento en la amplitud de las señales acústicas producido por las cuevas desde donde son emitidos los cantos de *Eupsophus* incrementa su distancia de propagación y en consecuencia aumenta la probabilidad de que estos sonidos sean detectados por hembras conespecíficas. A la vez, esta amplificación podría ser desventajosa, ya que también puede facilitar la detección de estos sonidos por receptores involuntarios, como depredadores y parásitos (revisado en Zuk & Kolluru 1998). No obstante, no se ha reportado de depredadores ni parásitos que utilicen las llamadas de anuncio emitidas por las ranas del género *Eupsophus* para localizarlos. Por lo tanto, es probable que la amplificación de los sonidos emitidos desde el interior de las cuevas de *Eupsophus* resulte principalmente en consecuencias benéficas para el desempeño reproductivo del macho residente.

Los patrones de atenuación de los sonidos emitidos desde las cuevas de ambas especies estuvieron de acuerdo con lo esperado, ya que el exceso de atenuación experimentado por tonos de frecuencias altas fue mayor que el experimentado por frecuencias bajas. La atenuación de los cantos de ambas especies de *Eusophus* emitidos desde las cuevas conespecíficas respectivas fue de

aproximadamente 1 dB promedio a 50 cm. Similarmente, registros de vocalizaciones emitidas durante interacciones naturales realizados en la misma localidad de estudio muestran que los cantos de *E. emiliopugini* y *E. calcaratus* a 50 cm presentan en promedio excesos de atenuación de aproximadamente 2 y 1 dB, respectivamente (Penna & Moreno-Gómez, en revisión). En las cuevas de ambas especies de *Eupsophus* la atenuación exhibida por los cantos de las cuatro especies de anfibios fue similar, siendo en general positiva y menor a 3 dB, lo que indica que aún a estas relativamente cortas distancias, el efecto de ambiente sobre la amplitud de las señales es significativo. Por otra parte, las cortas distancias a las cuales se evaluó el exceso de atenuación imposibilitan la identificación de un patrón que pueda ser atribuible a las diferencias espectrales y/o temporales de las vocalizaciones emitidas por estas cuatro especies de anfibios.

B) Experimentos de recepción de sonidos al interior de las cuevas.

La amplificación experimentada por los tonos puros emitidos externamente hacia las cuevas de *E. calcaratus* y *E. emiliopugini* mostró un patrón similar al encontrado en los experimentos de propagación. Las cuevas ocupadas por *E. emiliopugini* presentaron una frecuencia resonante promedio de 1,5 kHz y un factor de calidad ($Q = 8$) similar al que ha sido encontrado para las cavidades utilizadas por los grillos *Rufoccephalus* sp. ($Q = 7$; Bailey y col. 2001) y mayor al de las cuevas construidas por los grillos topo (*Scapteriscus acletus*, $Q = 2,5 - 2,7$; Bennet-Clark 1987). Por otro lado, las cavidades utilizadas por *E. calcaratus* exhibieron una frecuencia resonante cercana a la frecuencia dominante de los cantos emitidos por

esta especie y un factor de calidad considerablemente mayor al encontrado para las cuevas ocupadas por la otra especie ($Q = 20$). Estos valores indican que las cuevas utilizadas por ambas especies de *Eupsophus*, y particularmente las cuevas que se encontraban ocupadas por machos de *E. calcaratus*, amplifican principalmente los sonidos contenidos en una estrecha banda de frecuencias. A pesar de estos altos valores de Q , los experimentos de recepción de cantos mostraron que estos refugios amplifican en promedio 6 – 11 dB los cantos de las cuatro especies de anuros y las dos especies de aves. Esto se debe probablemente a que, en general, los cantos de estas especies no son sonidos puramente tonales, si no que contienen su energía en bandas de frecuencia relativamente anchas que se encuentran contenidas dentro del rango de frecuencias que experimentaron mayor amplificación al interior de las cuevas. Estos resultados corroboran la amplificación experimentada por los cantos de *E. emiliopugini* y *E. calcaratus* al interior de las cavidades que naturalmente ocupan (Penna & Solis 1996; Penna 2004) y extienden dicho efecto a las vocalizaciones emitidas por otras dos especies de anuros y dos especies de aves.

Si es que varias especies emiten sus señales acústicas sincrónicamente, y no existe una correspondencia cercana entre la señal emitida y la capacidad sensorial del receptor, ocurrirá interferencia entre los sonidos presentes en el ambiente, limitando así la capacidad del receptor para detectar las señales conespecíficas (Amézquita y col. 2011). En el caso de los anuros, estas interferencias podrían ser particularmente importantes, ya que los machos dependen de señales acústicas para advertir su presencia a hembras y otros machos (Wells & Schwartz 2006). Registros de la sensibilidad auditiva de *E. emiliopugini* y *E. calcaratus* han mostrado que los machos de estas especies presentan una mayor sensibilidad a sonidos de frecuencias entre 1,0 – 2,0 kHz (Penna y col. 2013; Penna & Moreno-Gomez 2014). Este rango de

sensibilidad indica que los machos de ambas especies son capaces de detectar los sonidos emitidos por otras especies que se encuentran presentes en su ambiente, tales como las vocalizaciones utilizadas en los experimentos de recepción. De esta manera, la amplificación que ejercen las cavidades sobre la generalidad de las señales acústicas entrantes, indica que al permanecer al interior de estos refugios, los machos de ambas especies de *Eupsophus* pueden efectivamente monitorear los niveles de ruido biótico externo. Esto permitiría a los individuos que se encuentran ubicados al interior de las cavidades adoptar ciertas estrategias que les permitan enfrentar estas interferencias. Por ejemplo, algunas especies de anfibios en presencia de sonidos heteroespecíficos disminuyen su tasa de canto (Penna & Meier 2011; Penna & Velasquez 2011; Bleach y col. 2015), mientras otras la aumentan (Phelps y col. 2011). No obstante, el efecto que puedan tener señales acústicas heteroespecíficas sobre la conducta vocal de anfibios del género *Eupsophus* es desconocida.

En el caso de las cuevas ocupadas por *E. emiliopugini*, la amplificación encontrada mediante experimentos de *playback* coincide con la experimentada por las vocalizaciones emitidas durante interacciones naturales, tanto para las vocalizaciones de *B. antartandica* como las de *E. emiliopugini*. Por otro lado, en las cuevas utilizadas por *E. calcaratus* se observó un aumento de aproximadamente 7 dB promedio en la amplificación experimentada por los cantos de individuos conespecíficos cercanos respecto a la amplificación encontrada mediante experimentos de *playback*. Esta diferencia puede deberse a que varios de los cantos de *E. calcaratus* que se registraron correspondían a individuos ubicados particularmente cercanos a la cueva experimental. No obstante, los registros de cantos emitidos durante interacciones naturales validan la utilización de vocalizaciones previamente grabadas como método

para explorar de manera realista la amplificación de señales acústicas al interior de las cavidades ocupadas por ambas especies de *Eupsophus*.

Futuras líneas de investigación que evalúen el efecto de la exposición a señales heteroespecíficas sobre la conducta vocal de ambas especies de *Eupsophus* podrían contribuir a comprender la relevancia adaptativa que la amplificación de estos sonidos tiene en las estrategias comunicativas utilizadas por estos anfibios. En particular, la amplificación de los cantos emitidos por el chuncho (*G. nanum*) y el concón (*S. rufipes*), dos aves potencialmente depredadoras de anfibios, podría influenciar la conducta de ambas especies de *Eupsophus*, como ha sido documentado en varios grupos taxonómicos incluyendo (i) cangrejos que en presencia de sonidos emitidos por peces depredadores disminuyen el consumo de almejas (Hughes y col. 2014), (ii) focas que se mantienen alejadas de la superficie del agua cuando son expuestas a las vocalizaciones de orcas (Deecke y col. 2002), (iii) arañas que enfrentadas a cantos de aves cesan sus actividades de cortejo y locomoción (Lohrey y col. 2009) y (iv) anfibios que en presencia de vocalizaciones de nutrias aumentan el tiempo designado a la actividad locomotora y de escape (Llusia y col. 2010).

Una limitación de la presente investigación es que en el archivo de audio utilizado para los experimentos se incluyeron los cantos de un único individuo de cada especie de ave, lo que ciertamente no refleja la variación inter-individual de las características temporales y espectrales presentes en las vocalizaciones de estas especies. No obstante, dada la magnitud del efecto de amplificación encontrado para las vocalizaciones de *S. rufipes* y *G. nanum* (entre 7 – 11 dB promedio), es esperable que un aumento en el número de individuos no modifique sustancialmente el resultado encontrado en la presente investigación ni altere las conclusiones obtenidas de estos datos.

El patrón de amplificación de los tonos sugiere que estos refugios además de amplificar las vocalizaciones generadas en el exterior, posiblemente amplifican ruidos de origen abiótico como sonidos generados por arroyos, viento o lluvia, los que concentran la mayor parte de su energía entre 0 – 2,0 kHz. Tal efecto de amplificación de sonidos abióticos sería relevante en la actividad vocal de estos anfibios, ya que se ha observado que los machos de *E. calcaratus* responden a niveles moderados de ruido de lluvia y arroyo aumentando la tasa de canto (Penna y col. 2005), mientras que machos de *E. emiliopugini* al ser expuestos a los mismo ruidos abióticos no modifican o disminuyen su actividad vocal (Penna & Hamilton-West 2007).

Registros del nivel de presión sonora de los cantos en condiciones naturales y de los umbrales auditivos en ambas especies de *Eupsophus* muestran que la comunicación entre machos está limitada a distancias de aproximadamente 2 m para *E. calcaratus* (Penna y col. 2013) y mayores a 8 m para *E. emiliopugini* (Penna & Moreno-Gómez, 2014). Sin embargo, este calculo no considera el efecto de las cuevas sobre la amplitud de las señales generadas externamente. Al añadir a los niveles de presión sonora encontrados por Penna y col. 2013 y Penna & Moreno-Gómez 2014 los aproximadamente 8 dB promedio que fueron amplificados los cantos de *E. emiliopugini* y *E. calcaratus* al interior de las cuevas conespecíficas respectivas, se obtiene que el espacio activo (i.e., la máxima distancia a la cual una señal puede ser detectada por un conespecífico) de *E. emiliopugini* podría alcanzar distancias mayores a 8 m, pudiendo incluso llegar a 16 m, dependiendo de la atenuación impuesta por el ambiente. Por otra parte, el espacio activo de *E. calcaratus* no sufriría modificaciones considerables, debido a que la amplitud de los cantos emitidos por esta especie decae rápidamente con la distancia alcanzando valores muy por debajo del umbral auditivo a 2 m de la fuente (Penna y col. 2013).

La ausencia de una relación entre la longitud del segmento libre de agua y la frecuencia resonante de las cuevas ocupadas por ambas especies de *Eupsophus*, tanto en los experimentos de propagación como de recepción, se encuentra en aparente contradicción con la relación inversa esperada entre la longitud de un tubo de paredes paralelas cerrado en un extremo y su frecuencia de resonancia (Fletcher & Thwaites 1983). Sin embargo, esto puede ser explicado porque las cuevas no corresponden a un cilindro perfecto de paredes paralelas, y son más bien refugios de paredes internas porosas cuyo diámetro varía a lo largo de su extensión. Por otra parte el diámetro no influye en la resonancia de un tubo si es menor a la mitad de la longitud de onda del sonido (Beranek 1996) y considerando que las cuevas de ambas especies de *Eupsophus* presentaron en promedio diámetros de aproximadamente 3,5 cm, el efecto del diámetro sería relevante para sonidos de frecuencias mayores a 5 kHz aproximadamente, lo que está fuera del rango de los tonos y de la frecuencia dominante de los cantos utilizados en los experimentos.

El efecto que ciertos refugios tienen sobre las señales acústicas emitidas y recibidas al interior ha sido estudiado en 7 especies de anuros (Bailey & Roberts 1981; Penna & Solis 1999; Penna 2004; Lardner & bin-Lakim 2002; Penna & Márquez 2007; Cui y col. 2012 y Tan y col. 2014). Sin embargo, la utilización de este tipo de estructuras pareciera ser una característica común entre anfibios de varias otras especies. Entre algunos ejemplos se encuentran los machos de *Aparaphenodon arapapa* que emiten cantos de anuncio desde el interior de bromelias (Lantyer-Silva y col. 2014), los machos de *Ranitomeya biolat* y de algunas especies del género *Raorchestes* que durante el cortejo utilizan internodos de bambú que han sido previamente agujereados por aves o insectos (Waldram 2008; Seshadri y col. 2014) o los machos *Kurixalus eiffingeri* que se ubican en los muñones dejados al cortar los

palos de bambú (Lin & Kam 2008). Esta amplia variedad de refugios representa un alto potencial para investigar su efecto sobre la estructura de los cantos que se emiten desde el interior y de los que están presentes en el ambiente, pudiendo este último efecto ser de especial relevancia en ambientes tropicales donde ocurren complejos ensambles acústicos formados por múltiples especies que emiten sus cantos sincrónicamente (Chek y col. 2003). Finalmente, es de esperar que estudios futuros se enfoquen no sólo en el efecto que los refugios tienen sobre la estructura de las señales, si no que también en las implicancias ecológicas y evolutivas que estas modificaciones tienen sobre la conducta de los organismos involucrados en las interacciones comunicativas.

CONCLUSIONES

Los resultados de los experimentos de propagación refutan la hipótesis original que predecía una amplificación preferencial de los cantos de ambas especies *Eupsophus* respecto a los cantos de las otras especies de anuros. Las cavidades utilizadas por ambas especies de *Eupsophus* amplificaron los cantos de las cuatro especies de anfibios y en particular, las cuevas ocupadas por *E. calcaratus* amplificaron en mayor magnitud los cantos de las dos especies de anuros que no utilizan estos refugios naturalmente.

Similarmente, la hipótesis sobre la amplificación diferencial de los cantos generados externamente a los refugios también es refutada en base a los resultados obtenidos de los experimentos de recepción. Se esperaba que las cuevas facilitaran principalmente la detección de las señales conespecíficas, lo que a su vez facilitaría la mantención de interacciones antifonales entre machos y la detección de señales emitidas por potenciales depredadores, lo que permitiría a estos anfibios disminuir el riesgo de depredación. Sin embargo, las cavidades amplificaron la totalidad de los cantos presentes en el ambiente.

Estos resultados destacan la importancia de considerar el efecto que este tipo de refugios tienen no solo sobre las señales conespecíficas, si no que sobre la generalidad de los sonidos de origen biótico que componen el paisaje acústico del bosque templado austral (e.g., Farina 2014).

REFERENCIAS

- Amézquita, A., Victoria Flechas, S., Lima, A.P., Gasser, H. & Hoedl, W. (2011) Acoustic interference and recognition space within a complex assemblage of dendrobatid frogs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**, 17058-17063.
- Arak, A. & Eiriksson, T. (1992) Choice of singing sites by male bush-crickets (*Tettigonia viridissima*) in relation to signal propagation. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **30**, 365-372.
- Bailey, W.J., Bennet-Clark, H.C. & Fletcher, N.H. (2001) Acoustics of a small Australian burrowing cricket: The control of low-frequency pure-tone songs. *Journal of Experimental Biology*, **204**, 2827-2841.
- Bailey, W.J., & Roberts, J.D. (1981) The bioacoustics of the burrowing frog *Heleioporus* (Leptodactylidae). *Journal of Natural History*, **15**, 693-702.
- Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., and Walker, S. (2014) lme4: Linear mixed-effects models using Eigen and S4. R package version 1.1-6. <http://CRAN.R-project.org/package=lme4>
- Bennet-Clark, H.C. (1987) The tuned singing burrow of mole crickets. *Journal of Experimental Biology*, **128**, 383-409.
- Bennet-Clark, H.C. (1999) Which Qs to choose: Questions of quality in bioacoustics. *Bioacoustics-the International Journal of Animal Sound and Its Recording*, **9**, 351-359.
- Beranek, L.L. (1996) Bioacoustics. New York: American Institute of Physics, Inc.
- Bleach, I.T., Beckmann, C., Both, C., Brown, G.P. & Shine, R. (2015) Noisy neighbours at the frog pond: effects of invasive cane toads on the calling behaviour of native Australian frogs. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **69**, 675-683.
- 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-Revue Canadienne De Zoologie*, **82**, 880-888.
- Bradbury, J.L. & Vehrencamp, S.L. (2011) Sound signal propagation and reception. En J.L. Bradbury & S.L. Vehrencamp (eds.) *Principles of animal communication*. pp 65 – 111. Sunderland MA: Sinauer Associates.
- Castellano, S., Giacoma, C. & Ryan, M.J. (2003) Call degradation in diploid and tetraploid green toads. *Biological Journal of the Linnean Society*, **78**, 11-26.

- Charlton, B.D., Reby, D., Ellis, W.A.H., Brumm, J. & Fitch, W.T. (2012) Estimating the Active Space of Male Koala Bellows: Propagation of Cues to Size and Identity in a Eucalyptus Forest. *Plos One*, **7**, 9.
- Chaverri, G. & Gillam, E.H. (2013) Sound amplification by means of a horn-like roosting structure in Spix's disc-winged bat. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **280**, 7.
- Chek, A.A., Bogart, J.P. & Loughheed, S.C. (2003) Mating signal partitioning in multi-species assemblages: a null model test using frogs. *Ecology Letters*, **6**, 235-247.
- Cui, J.G., Tang, Y.Z. & Narins, P.M. (2012) Real estate ads in Emei music frog vocalizations: female preference for calls emanating from burrows. *Biology Letters*, **8**, 337-340.
- Dabelsteen, T., Larsen, O.N. & Pedersen, S.B. (1993) Habitat-induced degradation of sound signals - quantifying the effects of communication sounds and bird location on blur ratio, excess attenuation, and signal-to-noise ratio in blackbird song. *Journal of the Acoustical Society of America*, **93**, 2206-2220.
- Daws, A.G., Bennet-Clark, H.C., Fletcher, N.H. (1996) The mechanism of tuning of the mole cricket singing burrow. *Bioacoustics-the International Journal of Animal Sound and Its Recording*, **7**, 81-117.
- Deecke, V.B., Slater, P.J.B. & Ford, J.K.B. (2002) Selective habituation shapes acoustic predator recognition in harbour seals, *Nature*, **420**, 171-173.
- Farina, A. (2014) *Soundscape Ecology: Principles, Patterns, Methods and Applications*. Springer Science+Business Media Dordrecht.
- Fletcher, N.H. & Thwaites, S. (1983) The physics of organ pipes. *Scientific American*, **248**, 94-103.
- García, L.V. (2003) Controlling the false discovery rate in ecological research. *Trends in Ecology & Evolution*, **18**, 553-554.
- Harris, C. M. (1966) Absorption of sound in air versus humidity and temperature. *Journal of the Acoustical Society of America*, **40**, 148-159.
- Hothorn, T., Bretz, F. & Westfall, P. (2008) Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal*, **50**, 346-363.
- Hughes, A.R., Mann, D.A. & Kimbro, D.L. (2014) Predatory fish sounds can alter crab foraging behaviour and influence bivalve abundance. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **281**, 8.
- Kime, N.M., Turner, W.R. & Ryan, M.J. (2000) The transmission of advertisement calls in Central American frogs. *Behavioral Ecology*, **11**, 71-83.

- Lange, S., Burda, H., Wegner, R.E., Dammann, P., Begall, S. & Kawalika, M. (2007) Living in a "stethoscope": burrow-acoustics promote auditory specializations in subterranean rodents. *Naturwissenschaften*, **94**, 134-138.
- Lantyer-Silva, A.S.F., Sole, M. & Zina, J. (2014) Reproductive biology of a bromeligenous frog endemic to the Atlantic Forest: *Aparasphenodon arapapa* Pimenta, Napoli and Haddad, 2009 (Anura: Hylidae). *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias*, **86**, 867-880.
- Lardner, B. & bin Lakim, M. (2002) Tree-hole frogs exploit resonance effects. *Nature*, **420**, 475-475.
- Lin, Y.S. & Kam, Y.C. (2008) Nest choice and breeding phenology of an arboreal-breeding frog, *Kurixalus eiffingeri* (Rhacophoridae), in a forest. *Zoological Studies*, **47**, 129-137.
- Lin, Y.S., Lehtinen, R.M. & Kam, Y.C. (2008) Time- and context-dependent oviposition site selection of a phytotelm-breeding frog in relation to habitat characteristics and conspecific cues. *Herpetologica*, **64**, 413-421.
- Llusia, D., Gomez, M., Penna, M. & Marquez, R. (2013) Call Transmission Efficiency in Native and Invasive Anurans: Competing Hypotheses of Divergence in Acoustic Signals. *Plos One*, **8**, 16.
- Llusia, D., Marquez, R. & Beltran, J.F. (2010) Non-Selective and Time-Dependent Behavioural Responses of Common Toads (*Bufo bufo*) to Predator Acoustic Cues. *Ethology*, **116**, 1146-1154.
- Lohrey, A.K., Clark, D.L., Gordon, S.D. & Uetz, G.W. (2009) Antipredator responses of wolf spiders (Araneae: Lycosidae) to sensory cues representing an avian predator. *Animal Behaviour*, **77**, 813-821.
- Lugli, M. (2013) Sand pile above the nest amplifies the sound emitted by the male sand goby. *Environmental Biology of Fishes*, **96**, 1003-1012.
- Malone, J.H., Ribado, J. & Lemmon, E.M. (2014) Sensory drive does not explain reproductive character displacement of male acoustic signals in the upland chorus frog (*Pseudacris feriarum*). *Evolution*, **68**, 1306-1319.
- Marten, K. & Marler, P. (1977) Sound transmission and its significances for animal vocalization. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **2**, 271-290.
- Mathevon, N., Aubin, T. & Dabelsteen, T. (1996) Song degradation during propagation: Importance of song post for the wren *Troglodytes troglodytes*. *Ethology*, **102**, 397-412.

- Morrill, R.J., Thomas, A.W., Schiel, N., Souto, A. & Miller, C.T. (2013) The effect of habitat acoustics on common marmoset vocal signal transmission. *American Journal of Primatology*, **75**, 904-916.
- Morton, E.S. (1975) Ecological sources of selection on avian sounds. *The American Naturalist*, **109**, 17-34.
- Nakagawa, S. (2004) A farewell to Bonferroni: the problems of low statistical power and publication bias. *Behavioral Ecology*, **15**, 1044-1045.
- Nemeth, E., Winkler, H. & Dabelsteen, T. (2001) Differential degradation of antbird songs in a Neotropical rainforest: Adaptation to perch height? *Journal of the Acoustical Society of America*, **110**, 3263-3274.
- Penna, M. (2004) Amplification and spectral shifts of vocalizations inside burrows of the frog *Eupsophus calcaratus* (Leptodactylidae). *Journal of the Acoustical Society of America*, **116**, 1254-1260.
- Penna, M. & Hamilton-West, C. (2007) Susceptibility of evoked vocal responses to noise exposure in a frog of the temperate austral forest. *Animal Behaviour*, **74**, 45-56.
- Penna, M. & Marquez, R. (2007) Amplification and spectral modification of incoming vocalizations inside burrows of the frog *Eupsophus roseus* (Leptodactylidae). *Bioacoustics-the International Journal of Animal Sound and Its Recording*, **16**, 245-259.
- Penna, M., Marquez, R., Bosch, J. & Crespo, E.G. (2006) Nonoptimal propagation of advertisement calls of midwife toads in Iberian habitats, *Journal of the Acoustical Society of America*, **119**, 1227-1237.
- Penna, M. & Meier, A. (2011) Vocal Strategies in Confronting Interfering Sounds by a Frog from the Southern Temperate Forest, *Batrachyla antartandica*, *Ethology*, **117**, 1147-1157.
- Penna, M. & Moreno-Gomez, F.N. (2014) Ample active acoustic space of a frog from the South American temperate forest. *Journal of Comparative Physiology a-Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology*, **200**, 171-181.
- Penna, M., Plaza, A. & Moreno-Gomez, F.N. (2013) Severe constraints for sound communication in a frog from the South American temperate forest. *Journal of Comparative Physiology a-Neuroethology Sensory Neural and Behavioral Physiology*, **199**, 723-733.
- Penna, M., Pottstock, H. & Velasquez, N. (2005) Effect of natural and synthetic noise on evoked vocal responses in a frog of the temperate austral forest. *Animal Behaviour*, **70**, 639-651.

- Penna, M. & Solis, R. (1996) Influence of burrow acoustics on sound reception by frogs *Eupsophus* (Leptodactylidae). *Animal Behaviour*, **51**, 255-263.
- Penna, M. & Solis, R. (1998) Frog call intensities and sound propagation in the South American temperate forest region. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **42**, 371-381.
- Penna, M. & Velasquez, N. (2011) Heterospecific Vocal Interactions in a Frog from the Southern Temperate Forest, *Batrachyla taeniata*, *Ethology*, **117**, 63-71.
- Phelps, S.M., Rand, A.S. & Ryan, M.J. (2007) The mixed-species chorus as public information: tungara frogs eavesdrop on a heterospecific, *Behavioral Ecology*, **18**, 108-114.
- Pike, N. (2011) Using false discovery rates for multiple comparisons in ecology and evolution. *Methods in Ecology and Evolution*, **2**, 278-282.
- R Core Team (2013) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Remage-Healey, L., Nowacek, D.P. & Bass, A.H. (2006) Dolphin foraging sounds suppress calling and elevate stress hormone levels in a prey species, the Gulf toadfish, *Journal of Experimental Biology*, **209**, 4444-4451.
- Richards, D.G. & Wiley, R.H. (1980) Reverberations and amplitude fluctuations in the propagation of sound in a forest: Implications for animal communication. *The American Naturalist*, **115**, 381-399.
- Römer, H. & Lewald, J. (1992) High-frequency sound transmission in natural habitats: Implications for the evolution of insect acoustic communication. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **29**, 437-444.
- Ryan, M.J., Crocoft R.G. & Wilczynski W. (1990) The role of environmental selection in intraspecific divergence of mate recognition signals in the cricket frog, *Acris crepitans*. *Evolution*, **44**, 1869-1872.
- Ryan, M.J. & Kime N.M. (2003) Selection on Long-Distance Acoustic Signals. En Megela-Simmons A., Popper A.N. & Fay R.R. (eds.) Acoustic communication. Pp 225 – 274. Springer handbook of auditory research; 16.
- Schleich, C.E. & Antenucci, D.C. (2009) Sound transmission and burrow characteristics of the subterranean rodent *Ctenomys talarum* (Rodentia: Ctenomyidae). *Acta Theriologica*, **54**, 165-170.
- Seshadri, K.S., Gururaja, K.V. & Bickford, D.P. (2014) Breeding in bamboo: a novel anuran reproductive strategy discovered in Rhacophorid frogs of the Western Ghats, India. *Biological Journal of the Linnean Society*, Early view, disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/bij.12388/pdf>

- Singmann, H. (2014) afex: Analysis of Factorial Experiments. R package version 0.9-109. <http://CRAN.R-project.org/package=afex>
- Sueur, J., Aubin, T. & Simonis, C. (2008) Seewave, a free modular tool for sound analysis and synthesis. *Bioacoustics-the International Journal of Animal Sound and Its Recording*, **18**, 213-226.
- Tan, W.-H., Tsai, C.G., Lin, C. & Lin, Y.K. 2014. Urban canyon effect: storm drains enhance call characteristics of the Mientien tree frog. *Journal of Zoology*, **194**, 77-84.
- Vargas-Salinas, F. & Amezcuita, A. (2014) Abiotic noise, call frequency and stream-breeding anuran assemblages. *Evolutionary Ecology*, **28**, 341-359.
- Verhoeven, K.J.F., Simonsen, K.L. & McIntyre, L.M. (2005) Implementing false discovery rate control: increasing your power. *Oikos*, **108**, 643-647.
- von May, R., Medina-Muller, M., Donnelly, M.A. & Summers, K. (2009) Breeding-site selection by the poison frog *Ranitomeya biolat* in Amazonian bamboo forests: an experimental approach. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie*, **87**, 453-463.
- Waldram, M. (2008) Breeding biology of *Ranitomeya biolat* in the Tambopata region of Amazonian Peru. *Journal of Herpetology*, **42**, 232-237.
- Wells & Schwartz (2006) Behavioral Ecology of anuran communication. En Narins, P.M., Feng, A.S., Fay, R.R. & Popper, A.N. (eds.) Hearing and sound communication in amphibians. Pp 44 – 86. New York, NY: Springer.
- Wiley, R.H. & Richards, D.G. (1978) Physical constraints on acoustic communication on the atmosphere: Implications fo the evolution of animal vocalizations. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **3**, 69-94.
- Zimmerman, B.L. (1983) A comparison of structural features of calls of open and forest habitat frog species in the Central Amazon. *Herpetologica*, **39**, 235 – 246.
- Zuk, M. & Kolluru, G.R. (1998) Exploitation of sexual signals by predators and parasitoids. *Quarterly Review of Biology*, **73**, 415-438.

ANEXO

Tabla A1. Análisis *post hoc* de la amplificación de tonos y cantos emitidos desde cuevas de *E. emiliopugini* y *E. calcaratus*. Los valores de p reportados están ajustado por la tasa de falsos descubrimientos y se muestran en negrita los valores significativos.

Señal	Cueva de:	Efecto	Comparación	z	p
Tonos	<i>E. emiliopugini</i>	Distancia	12,5 - 6,25	2,81	0.0124
			25 - 6,25	3,69	0.0008
			50 - 6,25	3,90	0.0005
			100 - 6,25	3,91	0.0005
			25 - 12,5	1,56	0.1696
			50 - 12,5	2,08	0.0755
			100 - 12,5	1,83	0.1121
			50 - 25	0,59	0.6929
			100 - 25	0,29	0.7746
			100 - 50	-0,29	0.7746
	<i>E. calcaratus</i>	Distancia	12,5 - 6,25	3,78	0.0008
			25 - 6,25	3,40	0.0023
			50 - 6,25	3,12	0.0046
			100 - 6,25	4,15	0.0003
			25 - 12,5	0,58	0.6440
			50 - 12,5	0,55	0.6440
			100 - 12,5	1,46	0.2915
			50 - 25	0,09	0.9263
			100 - 25	1,01	0.5248
100 - 50			0,85	0.5658	
Cantos	<i>E. emiliopugini</i>	Especie	EE - BA	9,91	< 0,0001
			EE - EC	1,64	0,1001
			EE - PT	13,46	< 0,0001
	<i>E. calcaratus</i>	Especie	EC - BA	-3,97	0.0002
			EC - EE	1,77	0.0772
			EC - PT	-3,76	0.0003

Tabla A2. *Likelihood ratio test* de los efectos fijos incluidos en los modelos lineales mixtos utilizados para el análisis del exceso de atenuación de tonos y cantos emitidos desde cuevas de *E. emiliopugini* y *E. calcaratus*. En negrita se muestran los valores significativos.

Señal	Cueva de:	Efecto	χ^2	gl	p	
Tonos	<i>E. emiliopugini</i>	Distancia (D)	7,74	1	0,0054	
		Frecuencia (F)	210,02	1	< 0,0001	
		Posicion del parlante (P)	0,70	1	0,4034	
		D x F	81,63	1	< 0,0001	
		D x P	0,08	1	0,7823	
		F x P	3,44	1	0,0635	
		D x F x P	0,57	1	0,4504	
		<i>E. calcaratus</i>	Distancia (D)	1,19	1	0,2756
	Frecuencia (F)		277,82	1	< 0,0001	
	Posicion del parlante (P)		0,89	1	0,3456	
	D x F		53,09	1	< 0,0001	
	D x P		0,58	1	0,4446	
	F x P		2,29	1	0,1302	
	D x F x P		0,08	1	0,7821	
Cantos	<i>E. emiliopugini</i>	Distancia (D)	0,70	1	0,4018	
		Especie (E)	20,31	3	0,0001	
		Posicion del parlante (P)	0,05	1	0,8160	
		D x E	36,58	3	< 0,0001	
		D x P	0,01	1	0,9362	
		E x P	6,11	3	0,1063	
		D x E x P	1,33	3	0,7232	
		<i>E. calcaratus</i>	Distancia (D)	0,19	1	0,6634
	Especie (E)		50,88	3	< 0,0001	
	Posicion del parlante (P)		0,04	1	0,8486	
	D x E		6,41	3	0,0935	
	D x P		3,54	1	0,0598	
	E x P		14,99	3	0,0018	
	D x E x P		3,65	3	0,3015	

Tabla A3. Análisis *post hoc* del exceso de atenuación experimentado por cantos emitidos desde cuevas de *E. emiliopugini* y *E. calcaratus*. Los valores de p reportados están ajustado por la tasa de falsos descubrimientos y se muestran en negrita los valores significativos.

Cueva de:	Efecto	Comparación	z	p
<i>E. emiliopugini</i>	Especie x Distancia	EC 100 - EC 50	0,57	0.5675
		EE 100 - EE 50	-0,60	0.5675
		PT 100 - PT 50	1,68	0.2165
		BA 100 - BA 50	1,61	0.2165
		EE 100 - EC 100	-4,10	0.0001
		EE 100 - PT 100	-5,20	< 0.0001
		EE 100 - BA 100	-7,01	< 0.0001
		EE 50 - EC 50	-0,58	0.5675
		EE 50 - PT 50	0,91	0.5675
		EE 50 - BA 50	-0,82	0.5675
		<i>E. calcaratus</i>	Especie x Posicion del parlante	BA adentro - BA Borde
EC adentro - EC Borde	-0,87			0,4796
EE adentro - EE Borde	-1,18			0,3383
PT adentro - PT Borde	3,09			0.0068
EC adentro - EE adentro	5,88			< 0,0001
EC adentro - BA adentro	-0,50			0,6206
EC adentro - PT adentro	-2,67			0,0187
EC Borde - PT Borde	0,73			0,5161
EC Borde - EE Borde	5,60			< 0,0001
EC Borde - BA Borde	-1,52			0,2134