

DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA ANIMAL I (ZOOLOGIA)
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Tesis doctoral:

COMPETENCIA E INTERACCIONES ACÚSTICAS EN
ALYTES OBSTETRICANS Y ALYTES CISTERNASII
Implicaciones en la selección de pareja

*Memoria presentada por el licenciado Jaime Bosch Pérez,
para optar al título de Doctor en Ciencias Biológicas, dirigida por el
Dr. Rafael Márquez Martínez de Orense.*



* 5 3 0 9 8 2 4 0 9 3 *

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

*Jaime Bosch
el Doctorando*

*Rafael Márquez
V.B. el Director*

*Gonzalo Francho
V.B. el Tutor*

Madrid, Enero de 1997

AGRADECIMIENTOS

Durante estos últimos años muchas han sido las personas que han contribuido a mi desarrollo tanto profesional como personal que ha conducido a la terminación de este trabajo.

En primer lugar tengo que agradecer profundamente la ayuda de mis padres y hermanos, que además de proporcionarme un medio agradable en el que vivir y trabajar, siempre me han apoyado moralmente y me han animado a continuar trabajando.

También durante estos años he contado siempre con el apoyo y la ayuda activa de Inma López, sin la cual probablemente no hubiese sido capaz de terminar casi nada.

También tengo que agradecer la ayuda y amistad de Rafa Márquez, con el que he desarrollado este y otros muchos trabajos científicos, y que más allá de un director de tesis, ha sido durante estos años un buen amigo con el que he compartido multitud de momentos de toda índole.

Durante mi estancia en el Museo Nacional de Ciencias Naturales muchas personas han contribuido a hacer mi estancia allí más agradable. Annie Machordom e Isabel Rey han sido durante años excelentes amigas y compañeras de cuarto que, además de ayudarme en temas concretos, me han proporcionado largas horas de interesante charla.

Muchos compañeros del Museo, biodiversos ellos, me han ayudado de alguna u otra forma y me han dado su amistad pese a ser del departamento "enemigo".

Gracias a Oso (Ignacio de la Riva), entre otros, he podido aprender algo sobre cómo escribir artículos científicos y he tenido acceso además al apasionante mundo acústico de las ranas neotropicales.

Con Marisa Esteban he compartido largas charlas muy agradables que, sin duda, han contribuido de alguna forma a mi desarrollo personal.

Un apartado especial de estos agradecimientos ha que ser para El Ventorrillo. Además de la concesión de una beca de El Ventorrillo durante tres años que me ha permitido realizar este trabajo, todas las personas que de alguna forma están o han estado ligados a El Ventorrillo han contribuido a hacer mi trabajo allí más agradable. Nino (Bernardino Torres) ha sido durante esos años un amigo en el que he podido confiar y siempre me ha ayudado con diligencia y eficacia. Carmen Franco, Ramiro Morales e Ingrid Mozetich han sido excelentes compañeros becarios con los que he compartido días y noches muy agradables en El Ventorrillo.

Luisma Carrascal, Pilar López, José Martín, y otros muchos moradores de El Ventorrillo también han enriquecido mi estancia allí y han hecho más llevadero el aislamiento invernal.

Santi Reig, Miguel Tejedo, Gonzalo Francho y sobre todo Luisma Carrascal me han ayudado en multitud de ocasiones a resolver mis problemas estadísticos.

En el campo y durante las largas e interminables sesiones de fonotaxis, Ramiro Morales, Carmen Franco, Josabel Belliure, Susi (María Jesús Sánchez), Javier Ruiz, Daniel Cejudo,

y sobre todo Oscar Quiroga e Inma López me ayudaron y me acompañaron

en horas intempestivas en El Ventorrillo, o por las cumbres de Peñalara,

o compartieron largos días o semanas de tedio en Mérida. Josh Schwartz y Carl Gerhardt revisaron amablemente algunas partes de este trabajo. Josh además, nos cedió

desinteresadamente el software por él escrito, y las instrucciones para la construcción del hardware necesario en el experimento de fonotaxis multialtavoiz (capítulo 8).

Marisa Esteban, Elisa Bello, David Buckley, Pepe Fernandez, Gloria Rosas, Fini Falagan,

Daniel Cejudo y Mario García-Paris han revisado algunas partes de este trabajo

y han aportado muchos comentarios y críticas constructivas.

David Buckley y Elisa Bello me han ayudado en la ingrata tarea

de adaptar algún capítulo a nuestra querida lengua.

En la facultad siempre he contado con la ayuda de Gonzalo Francho y Benigno Elvira.

José Antonio Bosch me ha ayudado en la parte estética de este trabajo

y en multitud de ocasiones durante estos últimos años.

Fini Falagan ha colaborado en las últimas etapas de este trabajo, ayudándome a superar baches emocionales y a concentrarme en la redacción de esto.

Los proyectos de investigación de Pere Alberch han proporcionado los fondos necesarios para llevar a cabo los trabajos de campo. El proyecto Fauna Ibérica también ha contribuido

con su material, y Marian Ramos ha sido un excelente "sargento"

en mi "servicio a la fauna de la patria ibérica".

Apple también tiene algo que ver en todo esto, diseñando y fabricando máquinas excelentes,

a veces incomprensiblemente no entendidas, que han hecho posible

y sobre todo extremadamente agradable realizar el presente trabajo.

A mis padres

*"Pocas disciplinas científicas
requieren mayor dedicación
o tanta resistencia física
como el estudio de animales salvajes
en su ambiente natural"*

David Attenborough
The Trials of Life

*"El ordenador es la más importante
de las invenciones humanas,
porque complementa al cerebro humano
precisamente en los dos aspectos que lo limitan
-por el lado de la lentitud y del aburrimiento-.
Ha conferido rapidez en asuntos complejos
que jamás se habrían abordado
a causa del tedio que implicaban"*

Colin Pittendrigh
Biólogo inglés

*"No hay silencio alguno en las ciudades de los blancos;
no hay ningún lugar donde se pueda oír crecer
las hojas en primavera y el zumbido de los insectos.*

Pero quizá es porque yo sólo soy un salvaje, y no entiendo nada.

*La charlatanería sólo daña a nuestros oídos. ¿Qué es la vida
si no se puede oír el grito solitario del pájaro chotacabras,
o el croar de las ranas en el lago al anochecer?*

Yo soy un Piel Roja y no entiendo esto.

*El indio puede sentir el suave susurro del viento, que sopla
sobre la superficie del lago, y el soplo del viento limpio
por la lluvia matinal, o cargado de la fragancia de los pinos.*

*El aire es de gran valor para el Piel Roja,
pues todas las cosas participan del mismo aliento:
el animal, el árbol, el hombre, todos participan del mismo aliento.*

*El hombre blanco parece no considerar el aire que respira;
a semejanza de un hombre que está muerto
desde hace varios días y está embotado contra el hedor.*

*Pero si os vendemos nuestra Tierra no olvidéis
que tenemos el aire en gran valor; que el aire comparte su espíritu
con la vida entera. El viento dio a nuestros padres el primer aliento,
y recibe el último hálito. Y el viento también insuflará a nuestros hijos la vida.
Y si os vendiéramos nuestra Tierra, tendríais que cuidarla como un tesoro,
como un lugar donde también el hombre blanco sepa
que el viento sopla suavemente sobre las flores de la pradera."*

**extracto del mensaje del Gran jefe Seattle
al Presidente de los Estados Unidos de América en el año 1855,
en respuesta a su oferta de comprar la Tierra a la tribu de los duwamish**

INDICE

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

1

Capítulo 2

MATERIAL Y MÉTODOS

14

Capítulo 3

LLAMADAS DE APAREAMIENTO DE ALYTES OBSTETRICANS Y ALYTES CISTERNASHI

22

Capítulo 4

FUNCIONES DISCRIMINANTES PARA EL SEXO EN ALYTES OBSTETRICANS Y ALYTES CISTERNASHI

40

Capítulo 5

COMPETENCIA ACÚSTICA Y SELECCIÓN DE PAREJA EN ALYTES OBSTETRICANS Y ALYTES CISTERNASHI

53

Capítulo 6

INTERACCIONES ACÚSTICAS MACHO-MACHO Y SELECCIÓN DE PAREJA EN ALYTES OBSTETRICANS Y ALYTES CISTERNASHI (PARTE I). AJUSTE TEMPORAL DE LAS LLAMADAS

71

Capítulo 7

INTERACCIONES ACÚSTICAS MACHO-MACHO
Y SELECCIÓN DE PAREJA
EN ALYTES OBSTETRICANS Y ALYTES CISTERNASII (PARTE II).
SOLAPAMIENTO ENTRE LLAMADAS

101

Capítulo 8

PREFERENCIAS DE LAS HEMBRAS EN MEDIOS ACÚSTICOS COMPLEJOS
EN ALYTES OBSTETRICANS Y ALYTES CISTERNASI

120

Capítulo 9

ASIMETRÍA FLUCTUANTE DEL TÍMPANO, TAMAÑO CORPORAL
Y SELECCIÓN DE PAREJA
EN ALYTES OBSTETRICANS Y ALYTES CISTERNASII

137

Capítulo 10

CONCLUSIÓN

153

Capítulo 11

BIBLIOGRAFÍA

160

A N E X O S

168

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

La selección sexual es un mecanismo evolutivo que favorece rasgos que afectan a la habilidad de un individuo para conseguir pareja frente a otros miembros de su mismo sexo, aunque esos rasgos supongan una disminución de su probabilidad de supervivencia. Si se define a la selección natural como el conjunto de fuerzas responsables del predominio de unos genes frente a otros a lo largo del tiempo, la selección sexual sería un caso más de selección natural.

Ya DARWIN (1871) observó que muchos caracteres sexuales secundarios eran consecuencia de la intensidad de la competencia entre machos para acceder a las hembras por dos motivos: porque proporcionaban ventajas en la lucha (competencia intrasexual), o porque hacían más atractivos a los machos para las hembras (elección de pareja).

FISHER (1930) publica "The Genetical Theory of Natural Selection" devolviendo el interés por la idea de la selección sexual que había permanecido dormida durante 60 años.

BATEMAN (1948) demostró en *Drosophila* que la varianza en el éxito reproductivo de los machos era mayor que en las hembras: sólo en los machos el número de hijos dependía del número de apareamientos. Así, BATEMAN sugirió que los machos debían competir por las hembras siendo poco selectivos en los apareamientos, mientras que las hembras debían ser más pasivas y mucho más selectivas. La diferencia de tamaño y por tanto de coste de fabricación de los gametos de machos y hembras aparece así como la razón fundamental de la diferencia de comportamiento sexual entre ambos sexos (ver MAYNARD SMITH 1978).

WILLIAMS (1966, 1975) contribuyó a la explicación evolutiva del comportamiento animal introduciendo el concepto de esfuerzo reproductivo y TRIVERS (1972) propuso un modelo cualitativo que acentuó la relación entre selección sexual y cuidado parental.

Los mecanismos de competencia intrasexual se han dividido frecuentemente en dos grupos según se

realicen antes o después de la cópula. Antes de la cópula se pueden producir luchas físicas entre machos (p.e. CLUTTON-BROCK *et al.* 1979), se pueden utilizar señales que indiquen de modo fiable la capacidad de lucha (p.e. DAVIES y HALLIDAY 1978; CLUTTON-BROCK *et al.* 1979), o bien se pueden adoptar estrategias alternativas como diferencias de comportamiento por tamaños (p.e. GROSS 1985), cambio de sexo (p.e. WARNER 1975) o comportamiento de macho satélite (un macho se sitúa cerca de otro macho para interceptar las hembras que éste consigue atraer) (p.e. ARAK 1988). Después de la cópula los mecanismos de competencia más habituales son los mecanismos que impiden el éxito de otras cópulas posteriores (ver HALLIDAY 1980), la competencia espermática (p.e. WAAGE 1984), el infanticidio (p.e. SCHALLER 1972) y el aborto (BRUCE 1959).

La utilización de señales que indiquen de modo fiable la capacidad de lucha se debe a que para los machos puede ser muy importante poder evaluar el costo de la lucha conociendo la capacidad del oponente. El problema lógico que surge, es que los machos están interesados en exagerar su verdadera capacidad de lucha, por lo que existen fuerzas selectivas que favorecen a aquellos receptores que sólo se fían de señales que no pueden trucarse para parecer mejor dotados para la lucha

Dado que la hembra es la que más invierte en cada intento apareamiento, la selección de pareja suele aparecer con mayor frecuencia en las hembras. La selección natural puede favorecer preferencias en el apareamiento que tengan un efecto inmediato en el éxito reproductor de las hembras, por ejemplo, cuando existe cuidado parental de los machos o cuando éstos aportan lugares de puesta. El éxito de fertilización de los machos también ha sido señalado en este contexto.

El problema de por qué las hembras desarrollan fuertes preferencias por algunas características de los machos, cuando parece que ellas no reciben beneficios tangibles de su elección, se conoce como *the paradox of the lek* (*lek* es un sistema de apareamiento en el cual los machos se congregan en un lugar específico para exhibirse ante las hembras. El lugar de reunión no informa sobre los recursos que puede aportar el macho. Las hembras en este sistema pueden elegir entre varios machos en función de su fenotipo y de su comportamiento exclusivamente). Recientemente se han desarrollado modelos matemáticos que explican las fuerzas evolutivas que motivan las preferencias hacia caracteres exagerados de los machos. Además, en la actualidad se están desarrollando multitud de experimentos para comprobar si estos mecanismos están operando hoy en las poblaciones naturales (KIRKPATRICK y RYAN 1991).

Se han propuesto tres mecanismos principales para explicar la evolución de las preferencias de las hembras en animales polígamos, que además pueden actuar de forma simultánea (KIRKPATRICK y RYAN 1991):

1. selección direccional,
2. buenos genes o selección indirecta a través de interacciones con parásitos (HAMILTON-ZUK 1982), y
3. selección indirecta por procesos retro-alimentados o *runaway* (FISHER 1930)

Teóricamente la selección direccional surge cuando las preferencias afectan a la supervivencia o fecundidad de las hembras (esto es, a su eficacia biológica o *fitness*). Aunque estas preferencias son adaptativas para las hembras, pueden hacer evolucionar en los machos *displays* elaborados que disminuyen su supervivencia.

Las hipótesis de selección indirecta por parásitos, o también llamadas de buenos genes, surgen de observar que muchas hembras prefieren machos vigorosos que deben ir acompañados por unos buenos genes. Cuando la hembra elige machos con caracteres extremos también estaría eligiendo machos más resistentes a las enfermedades o parásitos.

Las hipótesis sobre buenos genes predicen que las hembras seleccionan rasgos de los machos que son indicativos de una mayor viabilidad heredable. Sin embargo, en los anuros es difícil encontrar casos concretos donde estudiar estas hipótesis. En especies como *Hyla versicolor* (HAUSFATER *et al.* 1990) o *Scaphiopus couchii* (TINSLEY 1990) no se ha encontrado una correlación entre resistencia a los parásitos y preferencias de las hembras. En otras especies (MITCHELL 1990; WOODWARD 1986, 1987; WOODWARD *et al.* 1988), se ha encontrado una relación entre el tamaño del padre y tamaño de las larvas, aunque no está probado que el mayor tamaño de los individuos tras metamorfosear suponga una mayor viabilidad a largo plazo.

Los modelos de buenos genes, como los modelos de selección sexual *runaway* fisheriana, requieren una coevolución de los rasgos de los machos y las preferencias de las hembras.

La selección indirecta por procesos *runaway* también exige como la anterior, una correlación entre la evolución de la exageración del carácter y las preferencias de las hembras. Por ejemplo, para una hembra de alguna especie de pájaro podría ser ventajoso elegir un macho con un tamaño de cola un poco más larga de lo normal si esto supone alguna ventaja, como una mejor capacidad para volar, y además si este rasgo puede ser hereditario. Si este proceso continúa las hembras elegirían machos con colas cada vez más largas, hasta que el tamaño de la cola de los machos sea mayor de lo óptimo para el vuelo, convirtiéndose en una carga que resta viabilidad. Así, las

hembras deberían elegir machos con colas largas ya que así sus hijos heredarían este carácter y serían más atractivos para las hembras (hipótesis del hijo *sexy* o *sexy son*, WEATHERHEAD y ROBERTSON 1979). En los procesos *runaway* los caracteres de los machos no pueden permanecer en equilibrio ya que las fuerzas de la selección generadas por las preferencias más extremas se desarrollan más rápidamente de lo que el mismo carácter puede evolucionar.

Otra alternativa, que no invalida a las anteriores, es la teoría de la explotación sensorial (RYAN 1990; RYAN y RAND 1990; RYAN *et al.* 1990; KIRKPATRICK y RYAN 1991). La teoría de la explotación sensorial señala que se pueden desarrollar predisposiciones en las preferencias de las hembras antes de que se produzcan modificaciones en las señales de los machos. El estudio de las especies del grupo *Physalaemus pustulosus* ha proporcionado las mejores evidencias para esta teoría ya que en dos especies del grupo existen claramente preferencias de las hembras por varios añadidos acústicos (denominados *chucks* por los autores) que no se encuentran presentes en las llamadas.

EL SISTEMA DE APAREAMIENTO DE LOS ANUROS

La mayoría de las especies de anuros presentan actividad predominantemente nocturna y su reproducción tiene lugar en la oscuridad. En este escenario, las vocalizaciones son casi el único método que pueden usar los machos para atraer a las hembras de su especie a los lugares elegidos para la reproducción. Por lo tanto, en la inmensa mayoría de las especies, el comportamiento reproductor está mediado por las vocalizaciones de los machos.

Sólo en algunos machos que realizan búsquedas activas o presentan comportamiento de macho satélite (WELLS 1977a), o bien en algunas especies de anuros con actividad diurna, como los dendrobátidos (WELLS 1977b), existen otros mecanismos táctiles y visuales que juegan un papel importante en el comportamiento sexual.

Las vocalizaciones que emiten con más frecuencia los machos de los anuros se conocen como llamadas de anuncio o de apareamiento. En muchas especies emiten además otros tipos de llamadas que, aunque de

mucha menor importancia, también son usadas en el cortejo y la agresión. Además existen otras señales de naturaleza vibratoria que producen los machos al vocalizar, y que pueden jugar un papel importante en la comunicación (NARINS 1990).

Las llamadas de anuncio o de apareamiento tienen una doble función: por un lado atraer a las hembras de su especie y por otro lado advertir a los machos rivales de la presencia del macho cantor. En algunas especies las llamadas presentan claramente dos partes con esta doble función, en otras los machos emiten llamadas con dos tipos de notas para este doble objetivo, por un lado avisar a los machos rivales, y por otro atraer hembras conespecíficas. Dependiendo de las situaciones, una parte de llamada o un tipo de nota puede emitirse con más o menos frecuencia (NARINS y CAPRANICA 1978; RYAN 1985; WELLS 1988).

Se ha demostrado que los experimentos de playback con grabaciones de llamadas de machos o con llamadas sintéticas que imiten llamadas naturales, provocan una respuesta de aproximación en las hembras grávidas, cambios en el comportamiento fonador de los machos (incremento o cese de las vocalizaciones, o cambios en la disposición temporal de las llamadas) o bien respuestas de aproximación o alejamiento de machos de la misma o de otra especie.

Las llamadas de apareamiento pueden ser emitidas durante muchas horas al día y durante largos períodos de tiempo; además, en muchas especies son emitidas con una elevada presión de sonido (superior a los 100 dB a 50 cm). Por todo esto, la producción de vocalizaciones es sin duda la actividad que supone un mayor coste energético para los machos durante el período de la reproducción. El gasto metabólico de la actividad fonadora está relacionado con la duración de la llamada y con la tasa de emisión de las llamadas, o combinando ambas medidas, con el esfuerzo de llamada (WELLS y TAIGEN 1986, 1989).

Como hemos visto, las llamadas de apareamiento contienen un alto grado de información específica; así, estudiando las llamadas de híbridos producidos de forma artificial o de forma natural, se puede comprobar que presentan estructuras intermedias entre las de las especies progenitoras (GERHARDT 1974a).

Además de la información específica, las llamadas de apareamiento pueden contener información sobre las características del individuo en concreto. Así, en algunas especies se ha encontrado una relación significativa entre tamaño corporal (*snout-vent length*, SVL) y nivel de presión de sonido de las vocalizaciones (*sound pressure level*, SPL) (GERHARDT 1975). En muchas especies la frecuencia espectral de las llamadas está

correlacionada con el SVL de los machos (p.e. ZIMMERMAN 1983; RYAN 1988a; PENNA y VELOSO 1990; GERHARDT 1991), por lo que, una hembra puede inferir parcialmente el tamaño de un macho sólo con escuchar su llamada. Sin embargo, en algunas especies la frecuencia espectral de las llamadas puede modificarse, en determinados contextos sociales, alterando la tensión de las cuerdas vocales o cambiando la forma o la posición relativa de los cartílagos aritenoides en éstas (RYAN 1988a; RYAN y DREWES 1990). Además, algunos parámetros espectrales y sobre todo algunos parámetros temporales de las llamadas pueden modificarse en función de la temperatura corporal de los individuos (p.e. SCHNEIDER *et al.* 1986).

Aunque no está claro el origen de las vocalizaciones de los anuros, se ha sugerido que la salida del aire de la laringe por estimulación táctil o bien durante el salto, pudo ser el origen de la producción de sonidos en ranas y sapos (SCHMIDT 1991). Los machos y hembras presentan diferencias cuantitativas y cualitativas en la morfología de la laringe, la musculatura que la controla y las estructuras asociadas. Estas diferencias pueden explicar el dominio de los machos sobre las hembras en la producción de vocalizaciones (MARTIN 1972; MARSH y TAIGEN 1987; SCHNEIDER 1988; KELLEY y GORLICK 1990; RYAN y DREWES 1990).

Se sabe que la aparición y mantenimiento de la actividad fonadora está motivada por las concentraciones de andrógenos (KELLEY y GORLICK 1990). Por otro lado, aunque se conoce que el aprendizaje no tiene ninguna importancia en la producción de las vocalizaciones de los machos o en las preferencias de las hembras, algunas especies son capaces de reconocer las llamadas de sus vecinos frente a las de otros machos (DAVIS 1988), e incluso se ha comprobado que en los machos de dendrobátidos su "experiencia acústica" repercute en el grado de complejidad de sus vocalizaciones (WELLS 1977a, 1977b).

Dada la extraordinaria importancia de las vocalizaciones de los machos en el contexto de la reproducción, se esperaría que las presiones de selección favorecieran las características morfológicas o los comportamientos de los machos para incrementar la efectividad de las llamadas.

Después de la intensidad, la frecuencia espectral es el parámetro más importante que determina la distancia máxima a la que se transmiten las llamadas; en general, las llamadas de baja frecuencia se transmiten mejor que las llamadas de alta frecuencia. El tipo de hábitat y la posición del emisor y del receptor son otros parámetros importantes en la transmisión de las llamadas. En algunas especies se ha encontrado una estrecha relación entre el tipo de hábitat y la estructura de sus llamadas (RYAN y WILCZYNSKI 1991). Además, muchos

machos seleccionan, para emitir sus llamadas, lugares elevados que no presenten filtros que las atenúen o cavidades que actúen como cámara de resonancia (WELLS y SCHWARTZ 1982).

Ya que los machos se reúnen frecuentemente en densas agregaciones en los lugares idóneos para la reproducción, otro problema añadido para los machos es el de evitar las interferencias acústicas producidas por las vocalizaciones de otros machos de su misma u otra especie. Así, ante las interferencias acústicas los machos pueden adoptar mecanismos destinados a evitarlas como son la diferenciación de los lugares de llamada, de las estaciones reproductoras o de los horarios en los períodos de actividad de canto (LITTLEJOHN 1977; DUELLMAN y TRUEB 1986; RYAN 1988a). Sin embargo, también se han detectado otros mecanismos más específicos para evitar interferencias, como la utilización de diferentes frecuencias espectrales por machos de diferentes especies, o la sintonización del sistema auditivo de las hembras hacia las frecuencias de los machos conespecíficos, creando "canales privados" para la comunicación intraespecífica (GERHARDT 1994a). Otro mecanismo destinado a evitar interferencias es el ajuste de las llamadas en una escala temporal fina. El ajuste temporal de las señales es un fenómeno conocido y estudiado en animales que emplean señales acústicas o luminiscentes como son los insectos, las aves y los anuros (GREENFIELD 1994). De esta forma, en muchas especies de anuros los machos alternan sus llamadas con las llamadas de los vecinos evitando solapamientos.

Las llamadas de los machos también pueden atraer a parásitos y depredadores, por lo que algunas especies de anuros o bien dejan de llamar o reducen su actividad fonadora cuando detectan a un depredador, o bien se escudan en las llamadas de otros machos para no ser detectados (TUTTLE y RYAN 1982; RYAN 1985; JENNIONS y BACKWELL 1992).

Aunque en algunas especies, las llamadas de los machos de los anuros son capaces de atraer hembras de otras especies si no se producen las llamadas de machos conespecíficos (GERHARDT 1974b; GERHARDT 1982; GERHARDT y DOHERTY 1988; BACKWELL y JENNIONS 1993; GERHARDT y SCHWARTZ 1994), las hembras reconocen en la mayoría de los casos las llamadas de machos de su especie y seleccionan éstas frente a cualquier otra. La preferencia por las llamadas conespecíficas, puede llevar al extremo de que las hembras seleccionen a individuos de su familia para aparearse, como ha sido señalado en *Bufo americanus* (WALDMAN *et al.* 1992).

GERHARDT (1991) distingue entre propiedades dinámicas (parámetros temporales como la duración de la llamada y la tasa de emisión) y propiedades estáticas del canto en función de su grado de repetibilidad dentro de

una secuencia de llamadas (variación dentro de las llamadas de un macho frente a la variación total en la población). Como el rango de variación de las propiedades dinámicas entre machos es mayor que el de las estáticas, se espera que las propiedades dinámicas expliquen mejor el éxito reproductor de los machos.

Existe una extensa literatura sobre las preferencias de las hembras basadas en la estructura temporal dentro de las llamadas (esto es, su modulación de amplitud). Así, la curva envolvente de las llamadas y sobre todo la estructura de los pulsos, son parámetros ampliamente usados para el reconocimiento específico en muchas especies de hílidos (GERHARDT 1994a).

Las hembras prefieren llamadas con frecuencia cercana a la media de la población frente a las que se encuentren en los límites de la distribución de frecuencias de esa población (GERHARDT 1981; GERHARDT 1982; DOHERTY y GERHARDT 1984; GERHARDT 1987; GERHARDT y DOHERTY 1988), aunque en muchas especies se ha demostrado una preferencia de las hembras hacia llamadas de frecuencia baja que se corresponden con machos de mayor tamaño (DYSON y PASSMORE 1988, 1992; RYAN y KEDDY-HECTOR 1992; RYAN *et al.* 1992; MÁRQUEZ 1995a, 1995b).

Las preferencias de las hembras pueden verse alteradas por otros factores como son la presión de sonido de las llamadas, su tasa de emisión, su duración, etc. Estas preferencias de las hembras pueden incluso alterarse por factores propios como su temperatura corporal (GERHARDT y DOHERTY 1988).

Existen pocos estudios en anuros que demuestren un apareamiento ordenado por tamaños (los machos grandes se aparean con hembras grandes), y son también pocos los trabajos que demuestran una ventaja mayor de los machos de mayor tamaño cuando el tamaño está correlacionado con la frecuencia espectral de las llamadas. Sin embargo, otros factores que sí pueden estar relacionados con el tamaño del animal, como la tasa de emisión de las llamadas, suelen estar vinculados con el éxito reproductor de los machos (GERHARDT 1994a).

La combinación de experimentos de fonotaxis con hembras grávidas junto con las investigaciones neurofisiológicas del sistema auditivo, han contribuido al conocimiento de los mecanismos que rodean las preferencias de las hembras. Para estimar el umbral auditivo en función de la frecuencia, se han usado curvas de sintonización de las neuronas auditivas a las distintas frecuencias espectrales. Estas curvas representan la variación en la intensidad mínima de sonido a la que responde una sub-población de neuronas auditivas concreta en función de la frecuencia que en los anuros tiene forma de V con el vértice en la frecuencia óptima (p.e. CAPRANICA y

MOFFAT 1983). Los dos órganos del sistema auditivo periférico de los anuros, la papila anfibia (PA) y la papila basilar (PB), son sensibles a las bajas y altas frecuencias respectivamente. Existen varios ejemplos de correlación entre las frecuencias de sintonización de una o ambas papilas y las preferencias de las hembras (p.e. GERHARDT y DOHERTY 1988). En el leptodactílido *Physalaemus pustulosus* por ejemplo (RYAN *et al.* 1990), la frecuencia dominante de las llamadas, que es necesaria y suficiente para el reconocimiento específico, está correlacionada con la frecuencia óptima de la PA, mientras que la frecuencia de los "chuck" de la llamada está muy próxima a la frecuencia óptima de la PB. Sin embargo, este método no siempre proporciona predicciones acertadas sobre las preferencias de las hembras, ya que las frecuencias que obtienen las mejores respuestas neuronales pueden variar en función del nivel de presión de sonido (CAPRANICA 1992).

Aunque todavía no está demostrado, parece que existen diferencias en la sintonización de las neuronas auditivas de machos y hembras. La sintonización de frecuencias, así como las preferencias de las hembras, pueden ser dependientes del tamaño (ZAKON y WILCZYNSKI 1988; WILCZYNSKI *et al.* 1993) y, como en la mayoría de las especies las hembras son relativamente más grandes, esta diferencia de tamaño podría motivar diferencias de sintonización (p. e. ZAKON y WILCZYNSKI 1988).

El comportamiento reproductor de los anuros se ha dividido con frecuencia en dos categorías (WELLS 1977a) en función de la longitud del periodo de tiempo empleado en la reproducción: prolongado (más de un mes) y explosivo (pocos días o alguna semana). Esta dicotomía (aunque en realidad representa los extremos de un continuo) se corresponde con la distribución espacial y temporal de las hembras, por lo que puede relacionarse con los fenómenos de competencia entre machos *versus* selección de pareja de las hembras (TRIVER 1972). En especies con comportamiento reproductor explosivo, son habituales las agrupaciones densas de machos que compiten entre sí (muchas veces con luchas físicas) por acceder a las hembras, y las hembras tienen pocas oportunidades de elegir a los machos. Por el contrario en especies con reproducción prolongada, los machos se sitúan en el espacio más o menos distantes para cantar y atraer hembras desde una posición fija, y las preferencias de hembras por ciertos machos pueden expresarse mejor.

BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN EN ALYTES

Los sapos parteros (género *Alytes*) pertenecen a la familia Discoglossidae y son anuros primitivos que se engloban en el suborden de los arqueobatracios. Presentan un dimorfismo sexual muy bajo, sin caracteres sexuales secundarios.

Hasta la fecha se han descrito cuatro especies de sapos parteros (ARNTZEN y GARCÍA-PARÍS 1995). El sapo partero común, *Alytes obstetricans* (Laurenti, 1768) cuenta en la actualidad con cuatro subespecies: *A. o. obstetricans*, distribuida por gran parte de Europa, ocupa en la Península Ibérica la Cornisa Cantábrica; *A. o. almogavarii*, en el noreste peninsular; *A. o. boscai*, en el noroeste peninsular; y *A. o. maurus*, que se distribuye por las montañas del Rif y Atlas Medio en Marruecos. En la actualidad se está describiendo una nueva subespecie para el este peninsular (García-París, com. pers.). El sapo partero ibérico, *Alytes cisternasii* Boscá, 1879, se distribuye por el suroeste de la Península Ibérica. El sapo partero bético, *Alytes dickbilleni* Arntzen y García-París 1995 se distribuye únicamente por la Sierras Béticas del sureste peninsular. Por último, el sapo partero balear, *Alytes muletensis* (Sanchíz y Adrover, 1979) se encuentra restringido al norte de la isla de Mallorca.

El género *Alytes* es el único de la familia que presenta cuidado parental masculino. Los machos, tras completar un amplexo de tipo inguinal en tierra, enrollan los cordones de huevos que pone la hembra alrededor de sus tibias después de fecundarlos (p.e. DE L' ISLE 1873, 1876; BOULENGER 1912; HEINZMANN 1970; MÁRQUEZ y VERREL 1991; BUSH 1993). Después el macho transporta la puesta (de hasta tres o cuatro hembras) (READING y CLARKE 1988; MÁRQUEZ 1992) durante un período aproximado de un mes, hasta que las larvas están listas para eclosionar, momento en el que la deposita en el agua.

Los machos de *Alytes* se congregan frecuentemente en coros más o menos numerosos para cantar, y en ningún caso se producen agresiones o luchas físicas para acceder a las hembras. Los machos de *Alytes* emiten una de las llamadas de apareamiento de mayor simplicidad entre los anuros. Las llamadas son notas tonales cortas, emitidas a intervalos relativamente largos y sin características destacables de modulación de amplitud o de frecuencia. Los machos más grandes emiten llamadas de frecuencias más bajas que los machos de menor tamaño (p.e. SCHNEIDER 1966; HEINZMANN 1970; CRESPO *et al.* 1989; BUSH 1993; MÁRQUEZ y BOSCH 1996).

Las hembras de *Alytes* prefieren llamadas de baja frecuencia frente a llamadas de alta frecuencia, tanto en el campo como en condiciones de laboratorio (MÁRQUEZ 1995a, 1995b). Los machos mayores portan un mayor número de huevos ya que obtienen un mayor número de apareamientos (RAXWORTHY 1990; MÁRQUEZ 1993), aunque en general, no obtienen un mejor porcentaje de éxito en la eclosión de los huevos (MÁRQUEZ 1993).

Las hembras de *Alytes* también producen vocalizaciones (algo excepcional en anuros), aunque de mucha menor intensidad y en respuesta a las vocalizaciones de los machos (p.e. HEINZMANN 1970; MÁRQUEZ y VERREL 1991; BUSH 1993).

En *A. muletensis*, se ha encontrado que (por lo menos en condiciones de laboratorio) los machos sólo pueden transportar un número limitado de puestas, y el tiempo que tardan las hembras en producir una nueva puesta es inferior al tiempo en que los machos transportan la puesta (BUSH 1993). En *A. cisternasii* se ha descrito (en laboratorio) competencia entre las hembras (con luchas físicas) para acceder a los machos (VERREL y BROWN 1993), aunque este comportamiento nunca ha sido observado en la naturaleza por ningún autor. En *A. muletensis* se ha demostrado la selección de los machos por llamadas de hembras de bajas frecuencias (BUSH *et al.* 1996), que se corresponden con hembras de mayor tamaño que generan huevos mayores (BUSH 1993).

OBJETIVOS DE ESTE ESTUDIO

El conocimiento actual del sistema de apareamiento de los anuros es elevado en comparación con otros grupos animales. Sin embargo, aunque existen multitud de trabajos que han abordado casi todas las cuestiones posibles sobre el tema, en todos ellos se han utilizado una gran variedad de especies. Para muy pocas especies de anuros se han estudiado todos los procesos de su sistema de apareamiento. Además, los pocos casos en los que se conocen a fondo todos estos procesos en una sola especie, se trata de especies de anuros muy evolucionadas que presentan cantos complejos. Aunque el sistema de apareamiento de varias poblaciones de *Alytes* se conoce relativamente bien, aún quedan por estudiar los mecanismos de competencia e interacciones acústicas entre machos. Completar el conocimiento del sistema de apareamiento de *Alytes* desde esta perspectiva de competencia entre machos, supone por un lado, aportar un caso que permita una visión global del comportamiento reproductor de dos especies de anuros, y por otro aportar un ejemplo de especies poco evolucionadas, y que además presentan peculiaridades extraordinarias entre los anuros.

El objetivo principal de este trabajo es determinar la existencia y naturaleza de la competencia acústica entre machos. Para ello se profundizará en el estudio de las interacciones acústicas entre machos y de las preferencias de las hembras en la elección de pareja.

En este primer capítulo, se revisa el estado actual de conocimiento del papel de las vocalizaciones en el sistema de apareamiento de los anuros con el fin de realizar una introducción a los temas fundamentales de este trabajo. Todo el material y la metodología básica empleada en este estudio aparecen condensadas en el capítulo 2. En el capítulo 3, se analizan las llamadas de apareamiento de las poblaciones de *Alytes* estudiadas, cuyo conocimiento es imprescindible para abordar las cuestiones siguientes, además, con los datos disponibles de otras poblaciones estudiadas en otros trabajos, se analizará el significado taxonómico de las vocalizaciones en el género *Alytes*. El capítulo 4 aborda el problema del bajo índice de dimorfismo sexual en *Alytes*, ya que si se pretende realizar estudios de campo sobre el comportamiento reproductor es imprescindible poder diferenciar machos de hembras en cualquier momento, y por supuesto sin sacrificar el animal. En el capítulo 5 se estudia la competencia acústica entre machos de *Alytes*, es decir, si el esfuerzo de un animal a la hora de cantar está determinado por los machos vecinos. Se estudia la expresión de dicha competencia y sus repercusiones en la elección de las hembras. En el capítulo 6 se analizan las posibles interacciones acústicas entre machos: si varios machos cantan juntos pueden aparecer mecanismos de ajuste temporal de las vocalizaciones destinados a hacer más atractivas las llamadas para las hembras. En el capítulo 7 se estudia la frecuencia y las posibles repercusiones de los solapamientos entre las llamadas de los machos. En el capítulo 8 se estudia si las preferencias de las hembras hacia los cantos de los machos, conocidas en experimentos de dos altavoces, se modifican en medios acústicos complejos, esto es cuando las hembras tienen que elegir entre un número elevado de machos. En el capítulo 9 se analiza cómo algunas características de las hembras, que hasta ahora nunca habían sido estudiadas (tamaño corporal y asimetría fluctuante de los órganos del sistema auditivo externo), pueden conducir a diferencias en los patrones de selección de pareja. Por último, en el capítulo 10 se realiza una síntesis de los resultados obtenidos en este estudio y se discuten en un marco evolutivo.

Capítulo 2

MATERIAL Y MÉTODOS

En este capítulo vamos a describir el material y la metodología básicos empleados en este estudio. En aquellas ocasiones en que se hayan utilizado metodologías concretas, éstas aparecerán comentadas en los capítulos correspondientes.

LAS ESPECIES OBJETO DE ESTUDIO

Se han estudiado dos especies de sapos parteros (género *Alytes*): *Alytes obstetricans* (sapo partero común) y *Alytes cisternasii* (sapo partero ibérico).

Para la realización de este trabajo no se ha sacrificado ningún animal, y en todos los trabajos de campo y de laboratorio se ha contado siempre con los permisos oportunos de las Agencias de Medio Ambiente de las Comunidades Autónomas correspondientes. Por motivos conservacionistas (ambas especies de *Alytes*, se encuentran protegidas por la legislación), y dado que lo pretendido es estudiar el comportamiento reproductor, se procedió en todo momento con el máximo cuidado y respeto para interferir lo menos posible en la reproducción de las poblaciones. En el caso de los machos todas las grabaciones y experimentos se realizaron en el campo, y tras ser medidos y tomada su temperatura corporal, se liberaron inmediatamente. Las hembras empleadas en la experimentación se mantuvieron en cautividad por un breve espacio de tiempo, a una temperatura controlada relativamente baja, manteniendo el fotoperíodo natural, y dentro de cajas de plástico (34x17x10 cm) numeradas con un papel húmedo en su interior (papel no blanqueado con cloro) y alimentadas con larvas de mosca *ad libitum*, siendo manipuladas lo mínimamente imprescindible. Los individuos una vez liberados, en el mismo sitio de captura y dentro de la estación reproductora, se comportaban normalmente; incluso se observó que algunos ejemplares se reproducían inmediatamente después de ser liberados.

En ningún caso se marcaron los ejemplares, ya que el único método eficaz conocido de marcaje de anfibios, amputación de falanges, se consideró demasiado traumático en el contexto de la reproducción. Para evitar repeticiones en la toma de datos se procedió a la diversificación extrema del área de estudio, y dada la alta densidad de ambas especies en las zonas de trabajo, se estiman mínimas o inexistentes las posibles repeticiones.

LAS POBLACIONES ESTUDIADAS

La población estudiada de *A. obstetricans* está situada en las inmediaciones de la laguna Grande de Peñalara (Madrid). Esta laguna de origen glaciar está ubicada a 2000 m de altitud en la Sierra de Guadarrama, en el corazón del Sistema Central. La zona de estudio se encuentra en el piso crioromediterráneo, y está dominada por pastizales abiertos (*Festuca aragonensis*) con manchas de enebros rastreros (*Juniperus communis alpina*) y piorno (*Cytisus oromediterraneus*). Otras especies de anfibios presentes en la zona son *Salamandra salamandra*, *Bufo bufo*, *Bufo calamita*, *Rana perezi*, y con mucha menor densidad *Triturus marmoratus* e *Hyla arborea*.

La población de Peñalara se eligió por tratarse de una población alpina con fenología similar a la de la población conocida de Formigal (Huesca) (MÁRQUEZ 1992) y por presentar un período de actividad que no coincide en el tiempo con la población estudiada de *A. cisternasii*.

La época de estudio se centró en la primavera y principios de verano, esto es, los meses de mayo a julio, durante los años 1993, 1994 y 1995. La zona era visitada desde el atardecer hasta altas horas de la madrugada. Durante el trabajo de campo la temperatura del aire osciló entre 5 y 20°C.

La población estudiada de *A. cisternasii* está situada en las inmediaciones de la presa romana de Proserpina, a 4 km al noroeste de Mérida (Badajoz) y se trata de la localidad tipo de esta especie (BOSCÁ 1879). La zona está situada a 235 m de altitud, corresponde a un paisaje de bosque mediterráneo adhesado dominado por encinas (*Quercus ballota*) y atravesado por un arroyo temporal que permanece seco gran parte del año salvo en otoño (arroyo de las Adelfas). Otras especies de anfibios presentes en la zona son *Pleurodeles waltli*, *Triturus marmoratus*, *Pelobates cultripipes*, *Bufo bufo*, *Bufo calamita*, *Discoglossus galganoi* y *Rana perezi*.

La población de Mérida se eligió porque su fenología nos era conocida (RODRÍGUEZ-JIMÉNEZ 1988; MÁRQUEZ 1992) y porque sus individuos presentan un corto período de actividad fácilmente predecible, que no se solapa en el tiempo con la población estudiada de *A. obstetricans*.

La época de estudio se centró en los meses de septiembre a noviembre, coincidiendo con las primeras lluvias de otoño, durante los años 1993, 1994 y 1995. El trabajo de campo se realizó desde el atardecer hasta el amanecer, oscilando la temperatura del aire entre 12 y 22°C.

Además, para el capítulo 3 y en el caso de *A. obstetricans* se estudiaron otras poblaciones para comparar los resultados obtenidos del análisis de las vocalizaciones.

REGISTRO DE LAS VOCALIZACIONES

Las grabaciones se realizaron con un micrófono unidireccional Sennheiser ME 80 y grabadoras profesionales Sony WM D6 o Marantz PMD 221, en cinta cassette tipo II (cromo).

El micrófono direccional permite la limitación del espacio acústico registrado, lo que posibilita la grabación de individuos que se encuentran próximos a otras fuentes de sonido (otros machos cantores, vocalizaciones de otras especies o ruido ambiente). Las grabadoras profesionales, con control manual de grabación, permiten ajustar en todo momento el nivel de grabación a la intensidad de la fuente de sonido, evitando la posible distorsión de las características espectrales del sonido.

DIGITALIZACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS REGISTROS

Los registros sonoros fueron digitalizados en un ordenador Macintosh IIfx (Apple Inc.) utilizando software y hardware de Sound Tools (Digidesign Inc.). Salvo en el caso de secuencias de larga duración de las que sólo se extrajo información temporal, la digitalización se realizó a una resolución de 44.1 kHz y 16 bits (calidad compact disc); en caso contrario se realizó a 22 kHz y 8 bits.

En primera instancia, los registros fueron editados con objeto de limpiarlos de ruidos o bandas de frecuencia no deseadas, o bien para amplificar la señal, con ayuda de la aplicación SoundDesignerII para Macintosh de Sound Tools.

El análisis de los registros se realizó con la aplicación informática Signalyze para Macintosh (InfoSignal Inc.). Ocasionalmente se realizaron algunas operaciones más de filtrado con dicho software, aunque fundamentalmente Signalyze se utilizó para la obtención de información temporal y espectral, así como para generar oscilogramas y audiospectrogramas. El análisis de frecuencias se realizó a base de transformaciones rápidas de Fourier (FFT) (anchura de la ventana 1024 puntos, resolución 22 Hz).

OTRO MATERIAL EMPLEADO

La temperatura corporal de los machos se tomó inmediatamente después de registrar su canto, con la ayuda de un termómetro termopar Fluke 52 K/J de lectura rápida, introduciendo el extremo de la sonda en la cloaca del animal.

La medición de la presión de sonido se realizó con un sonómetro Realistic Sound Pressure Meter en la posición de respuesta rápida (intervalo corto de medición del SPL) y tipo curva de medición C (curva plana de frecuencias que van de 32 a 10000 Hz).

Las medidas anatómicas de los individuos se tomaron con la ayuda de un calibre digital Mitutoyo CD-15 (precisión 0.01 mm) o un calibre convencional DEMM (precisión 0.05 mm). La medición de la longitud hocico-cloaca (SVL) de los animales se realizó presionando el calibre sobre la cara ventral del animal una vez introducido en una pequeña bolsa de plástico (precisión 0.5 mm).

El peso de los ejemplares se tomó con una balanza de precisión Quantum (precisión 0.01 g).

GENERACIÓN DE LLAMADAS SINTÉTICAS

Las llamadas sintéticas fueron generadas por ordenador con la aplicación SoundEdit Pro (Farallon Inc.) para Macintosh. Se tomó la envolvente de una llamada natural representativa de la población, posteriormente se generó un tono puro (resolución de 22 kHz y 8 bits) con la duración y frecuencia deseadas, al que le fue aplicado la curva envolvente (fig. 2.1, pag. 14). Para la construcción de llamadas solapadas en el tiempo se recurrió a operaciones de suma de señales ente canales con la aplicación SoundDesigner II.

Se construyeron llamadas sintéticas con la duración media obtenida en cada población y con frecuencias que variaron entre la frecuencia media y la media ± 1.5 veces la desviación estándar de la población. Se obtuvieron así llamadas sintéticas que se correspondían con machos de pequeño tamaño (frecuencias agudas), de tamaño medio (frecuencia media), y de gran tamaño (frecuencias graves). En todos los casos los valores utilizados en las llamadas sintéticas se encontraban dentro del rango observado en cada población estudiada.

PLAYBACK ESTÁTICOS

Estos playback se realizaron con estímulos constituidos por series de llamadas sintéticas generadas por ordenador que eran registradas en cinta cassette y emitidas en el campo con un reproductor Sony TCM-84V. La presión de sonido de los playback se ajustó a 70 dB a 1 metro (valor medio de los machos cantores obtenido en la naturaleza).

Cuando un macho se encontraba cantando de forma aislada (sin otro macho cantando a menos de 5 metros) sus vocalizaciones eran registradas durante un cierto tiempo, conectando después el reproductor de cassette que emitía los estímulos. Durante el playback las vocalizaciones de los machos (junto con los estímulos) eran registradas en cinta cassette de forma habitual.

PLAYBACK INTERACTIVOS

En estos experimentos de playback se utilizaron estímulos que consistían en llamadas sintéticas de frecuencia media como comentamos anteriormente. Sin embargo, en este caso los estímulos se generaban directamente desde un ordenador portátil PowerBook 165c de Apple, conectado a un amplificador Sony SRS-58PC. El ordenador estaba también conectado a un micrófono MacRecorder (Farallon Inc.) que detectaba las vocalizaciones del macho estudiado. Tras un periodo de tiempo establecido desde que se producía una llamada del macho, el sistema emitía un estímulo. Para este trabajo construimos una aplicación informática para Macintosh (CSER, ANEXO I) en lenguaje HyperTalk como una pila de HyperCard (Apple Inc.). El proceso de ajuste de la presión de sonido del estímulo y el registro del experimento se realizaron como se comentó anteriormente.

EXPERIMENTOS DE FONOTAXIS (2 ALTAVOCES)

Se utilizó un recinto cuadrado de 1.8 metros de lado y 60 centímetros de altura construido con listones de madera y forrado de tela de color negro. El recinto se situaba al aire libre coincidiendo con el período de actividad de los machos en cada población. En el caso de *A. obstetricans* los experimentos se realizaron en las instalaciones

de El Ventorrillo (Navacerrada), a pocos kilómetros del área de estudio; en el caso de *A. cisternasii* los experimentos se realizaron en Mérida a pocos metros del área de estudio. El recinto era iluminado desde arriba por una tenue luz roja, y en lados opuestos y por fuera de éste se colocaron dos altavoces que emitían de forma alternativa los estímulos correspondientes.

Los estímulos empleados consistían en llamadas sintéticas como las comentadas anteriormente, que eran emitidas en estéreo directamente desde un ordenador PowerBook 165c y amplificadas con un reproductor Sanyo C33. Por cada canal de sonido se emitían estímulos que eran ajustados independientemente en el centro del recinto a 70 dB. Cada cierto tiempo se invertía la posición de los altavoces y se volvía a ajustar la presión de sonido de los estímulos.

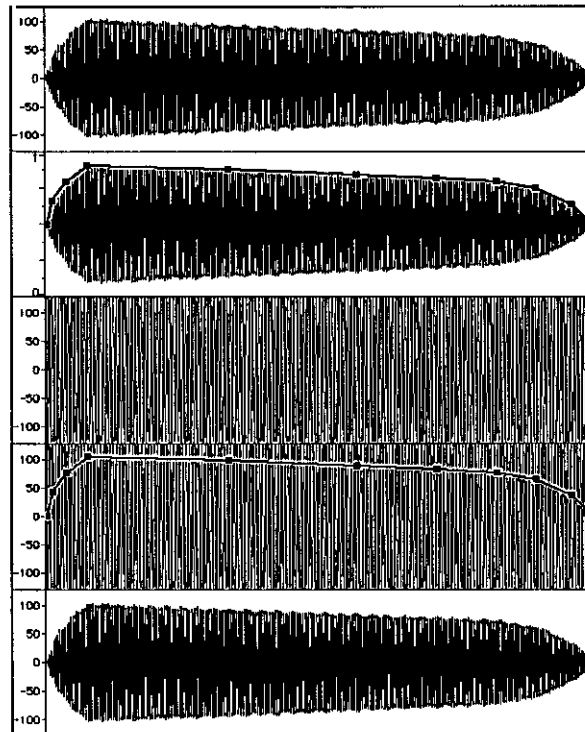
Se recogieron hembras grávidas (con huevos en la cavidad abdominal observados por transparencia) que eran mantenidas en cautividad por un corto período de tiempo como se indicó anteriormente.

Cada hembra se situaba en el centro del recinto donde era mantenida unos instantes dentro de un recipiente permeable al sonido para habituarse, tras lo cual el recipiente se retiraba y la hembra disponía de un tiempo de 3 minutos para elegir un estímulo. Se consideraba que la hembra elegía un estímulo cuando se acercaba hasta tocar el altavoz situado tras la tela o cuando tocaba la tela a menos de 10 centímetros del altavoz. Si durante el tiempo fijado la hembra no elegía ningún estímulo o tocaba la pared del recinto en cualquier otro punto, el intento se consideraba nulo.

APLICACIONES ESTADÍSTICAS UTILIZADAS

Los análisis estadísticos se realizaron con las aplicaciones Statview 4.1 (Abacus Concepts Inc.) y Statistica 4.1 (StatSoft Inc.) para Macintosh y SPSS 5.0 para Windows.

Figura 2.1



Secuencia de creación de una llamada sintética.

A partir de una llamada natural (arriba) se extrae su curva envolvente.

*Después se genera un tono puro de la duración y la frecuencia deseadas
y se le aplica la curva envolvente obtenida antes.*

*El resultado es una llamada sintética (abajo) con duración y frecuencia conocidas
y prácticamente indistinguible de la llamada natural.*

Capítulo 3

LLAMADAS DE APAREAMIENTO
DE ALYTES OBSTETRICANS
Y ALYTES CISTERNASII

Basado en:

MÁRQUEZ, R., y BOSCH, J., 1995. Advertisement calls of the midwife toads *Alytes* (Amphibia, Anura, Discoglossidae) in continental Spain. *Z. Zool. Syst. Evolut.-Forsch.*, 33: 185-192.

RESUMEN

*En este capítulo se describen las llamadas de apareamiento de seis poblaciones de *Alytes* y se presentan oscilogramas y audioespectrogramas de llamadas típicas. La duración y la frecuencia dominante de la llamada son características poco variables o "estáticas".*

La tasa de repetición de las llamadas, por el contrario, es muy variable o "dinámica". Se comparan los parámetros temporales y espectrales de las llamadas con el tamaño y temperatura del macho emisor.

La relación de la temperatura corporal con la duración de la llamada en las distintas poblaciones aparece claramente vinculada con la filogenia establecida para el género.

*La población estudiada de la Sierra de Guadarrama (Peñalara), tradicionalmente considerada perteneciente a la subespecie *A. obstetricans boscai*, muestra una extraordinaria semejanza acústica con la población de *A. obstetricans almogavarii*; por lo que se confirma la ampliación del límite suroeste de la distribución de esta subespecie.*

INTRODUCCIÓN

Las llamadas de apareamiento en los anuros constituyen importantes caracteres taxonómicos por su papel en el aislamiento prezigótico de las especies. El análisis de estas llamadas ha proporcionado un importante material para la comparación cuantitativa, que puede ser usado para dilucidar problemas taxonómicos tales como determinar especies crípticas (p.e. LOFTUS-HILLS y LITTLEJOHN 1971; SCHNEIDER y SINSCH 1991; PAILLETTE *et al.* 1992; SCHNEIDER *et al.* 1993), analizar gradientes a través de zonas híbridas, detectar fenómenos de hibridación entre especies muy próximas (p.e. ZWEIFEL 1968; GERHARDT 1974a; GERHARDT *et al.* 1980; SCHNEIDER y JOERMANN 1988; GERHARDT *et al.* 1994) e incluso han servido para ensayar hipótesis en biología evolutiva tales como desplazamiento de carácter reproductor o especiación por refuerzo (LITTLEJOHN y WATSON 1985; LITTLEJOHN 1988; SANDERSON *et al.* 1992). Por lo tanto, a partir del desarrollo de las técnicas de análisis de sonidos, el esfuerzo se ha concentrado en describir con precisión y de forma cuantitativa las llamadas de apareamiento de muchas especies de anuros, tanto en las áreas tropicales (p.e. SCHLÜTER 1981; DE LA RIVA *et al.* 1995; BOSCH *et al.* 1996; MÁRQUEZ *et al.* 1996; DE LA RIVA *et al.* 1996a, 1996b, 1996c), como en las zonas templadas (p.e. SCHNEIDER 1966, 1971, 1974; SCHNEIDER y EICHELBERG 1974; PAILLETTE 1977). Además, muchos estudios se han dirigido a la cuestión de determinar semejanzas bioacústicas entre táxones relacionados (DUELLMAN y PYLES 1983; MÁRQUEZ *et al.* 1993; DE LA RIVA *et al.* 1994; MÁRQUEZ *et al.* 1995), y cuando se dispone de una filogenia, comparar estas afinidades bioacústicas con las relaciones de parentesco propuestas en base a criterios morfológicos o taxonómicos (SCHNEIDER 1974; RYAN 1990; RYAN *et al.* 1990; COCROFT y RYAN 1995). Con la excepción de los estudios de RYAN de cuatro especies del género *Physalaemus* (Leptodactylidae), todos los estudios comparativos detallados se han realizado en especies con llamadas de estructuras temporales complejas, es decir, con llamadas típicamente pulsadas. Por tanto, quedaba aún pendiente un estudio bioacústico comparativo en un grupo primitivo de anuros con llamadas simples.

Entre los grupos de anuros más primitivos se encuentran la familia Bombinatoridae con *Bombina*, los

sapos de vientre de fuego como género característico, y la familia Discoglossidae (FORD y CANNATELLA 1993; SANCHÍZ 1997) que incluye, entre otros, los sapos parteros (género *Alytes*). Las llamadas de apareamiento de los machos de estos dos géneros son de las más simples dentro de los anuros (ZWEIFEL 1959; SCHNEIDER 1966; HEINZMANN 1970; CRESPO *et al.* 1989; MÁRQUEZ y VERRELL 1991; MÁRQUEZ y BOSCH 1996). Por otro lado, evidencias morfológicas y electroforéticas reunidas recientemente (ROSA *et al.* 1990; GARCÍA-PARÍS 1992) proporcionan una ventaja al completar el conocimiento de la filogenia de las especies ibéricas del género *Alytes* con la descripción de nuevas especies y subespecies (ARNTZEN y GARCÍA-PARÍS 1995). Por lo tanto, es interesante establecer si las afinidades bioacústicas pueden servir en la comparación de un grupo primitivo de anuros con llamadas simples, y la distribución de los táxones del género *Alytes* en la España continental proporciona un excelente material para este propósito.

*El objetivo de este capítulo es, por un lado el conocimiento y la caracterización bioacústica de las poblaciones estudiadas. Esto es absolutamente necesario para posteriores estudios sobre el comportamiento acústico de estas especies. Por otro lado, se pretende determinar si las afinidades bioacústicas entre diferentes poblaciones ibéricas de *Alytes* coinciden con la reciente filogenia establecida para el género. Si las afinidades bioacústicas son consistentes, los resultados pueden arrojar luz sobre los límites de distribución de las poblaciones en áreas no estudiadas genéticamente.*

MATERIAL Y MÉTODOS

Las grabaciones fueron obtenidas con micrófonos direccionales Uher, Telemike ATR55, o Sennheiser ME 80. Las grabadoras utilizadas fueron Uher Report, Sony WM D3, Sony WM D6, y Marantz PMD 221. Cuando un macho era observado cantando, después de ser grabado se tomaba su temperatura cloacal con un termómetro Fluke 52 termopar (precisión 0.1°C), y se medía su longitud hocico-cloaca (SVL) en su cara ventral presionando el animal contra una regla (precisión 0.5 mm).

Las grabaciones de *A. obstetricans* fueron registradas en 1987 en la sierra de Gredos (Ávila), en 1988 y 1989 en Formigal (Huesca), en 1992, 1993 y 1994 en Aliste (Zamora), y en 1993 y 1994 en Peñalara (Madrid). Las llamadas de *Alytes dickhilleni* fueron registradas en 1992 en la Sierra de Baza, Sierra Nevada, Sierra de Cazorla (Andalucía), y Sierra de Alcaraz (Castilla-La Mancha). Las llamadas de *A. cisternasii* fueron registradas en 1988,

1989, 1993 y 1994 en Mérida (Badajoz) (ver fig. 3.1, pág. 35, para la localización exacta de las poblaciones estudiadas). Las grabaciones y el análisis de las llamadas de los machos de las poblaciones de Formigal y de la Sierra de Gredos fueron realizadas por Rafael Márquez. En el caso de la población de Mérida (Badajoz) los datos obtenidos en este estudio fueron añadidos a los obtenidos por Rafael Márquez en años anteriores. Sólo en el caso de *A. dickbilleni*, donde el tamaño de la muestra no era muy grande, se tomaron de forma conjunta las grabaciones de cuatro poblaciones diferentes. Las grabaciones de las restantes localidades se obtuvieron de una única población, aunque en algunos casos se unieron grabaciones obtenidas en diferentes años.

RESULTADOS

Las llamadas de los machos de *Alytes* en todos los casos son de corta duración (100-160 ms), extremadamente simples; son notas tonales repetidas a intervalos relativamente largos (0.5-10 s) sin características sobresalientes en la frecuencia o modulación de amplitud (SCHNEIDER 1966; CRESPO *et al.* 1989; BUSH 1993; MÁRQUEZ y BOSCH 1996). Todas las llamadas analizadas aquí reflejan esa simplicidad (fig. 3.2, pág. 36).

Se han analizado un total de 4022 llamadas de 281 machos de las 6 poblaciones. Para cada macho se ha analizado una muestra de 2 a 84 llamadas. En todos los casos las llamadas son notas tonales extremadamente simples con la mayoría de la energía concentrada en la frecuencia fundamental (dominante). La tabla 3.1 (pág. 30) muestra, para cada población estudiada, los parámetros numéricos (media, desviación estándar, coeficiente de variación, y rango) de la duración de la llamada, frecuencia dominante, e intervalo entre llamadas. La tabla 3.1 también incluye la media de la temperatura de grabación y el SVL medio de los individuos analizados. El alto valor medio de los coeficientes de variación del intervalo entre llamadas en todas las poblaciones analizadas (rango 0.259-0.478) contrasta con el relativamente bajo valor de los coeficientes de variación de la duración (rango 0.035-0.055) y la frecuencia dominante (rango 0.008-0.015). Esto sugiere que el intervalo entre llamadas es extremadamente variable dentro de los individuos, mucho más que el de las otras dos variables del canto analizadas. A pesar de esta alta variabilidad, un test de Kruskal Wallis ANOVA determina que la variabilidad entre individuos es mayor que la variabilidad dentro de los individuos para las tres variables del canto analizadas (tabla 3.2, pág. 32). Este resultado sugiere que todas las variables analizadas pueden proveer de información sobre el canto

de los individuos, aunque el intervalo medio entre cantos es poco probable que sea una característica predecible.

Las distribuciones de la frecuencia fundamental y de la duración de las llamadas en cada población aparecen en la figura 3.3 (pág. 37). Las poblaciones de *A. cisternasii* y *A. dickbilleni* presentan una distribución de frecuencias dominantes y duraciones centradas alrededor de un marcado alto valor. En general, hay que destacar, el considerable solapamiento que existe en la distribución de cada variable entre poblaciones de diferentes especies y subespecies. Esto sugiere que ninguna de estas variables por sí sola puede ser suficiente para discriminar entre táxones.

En todas las poblaciones, la frecuencia dominante está significativamente correlacionada con el tamaño del animal y la temperatura cloacal con la duración de la llamada (fig. 3.4, pág. 38). Un análisis de regresión múltiple para todas las poblaciones, cuando el tamaño del macho y la temperatura se consideran juntas, muestra que sólo el tamaño está significativamente correlacionado con la frecuencia. La tabla 3.3 (pág. 33) muestra que en sólo tres de las seis poblaciones estudiadas, la temperatura cloacal está significativamente correlacionada con el intervalo entre llamadas, y sólo en el caso de *A. obstetricans* de Aliste, la correlación es altamente significativa. Por otro lado, hay que destacar que aunque la relación tamaño corporal-frecuencia dominante es alta (media de $r=0.5725$), su coeficiente de correlación es relativamente bajo en comparación con el de la relación entre la temperatura cloacal y la duración de la llamada (media de $r=0.7748$). Esto sugiere que la relación temperatura-duración de la llamada puede permitir comparaciones bivariantes bastante ajustadas. Tales comparaciones, confirmadas con tests de Tukey comparando elevaciones y pendientes (tabla 3.4, pág. 34), muestran afinidades interesantes entre poblaciones (fig. 3.5, pág. 39). En la figura 3.5, la recta de regresión que representa la población de Mérida (*A. cisternasii*) es claramente diferente a las otras; las rectas de las poblaciones de *A. obstetricans boscai* de Aliste y Gredos muestran pendientes similares pero diferentes interceptos. Para una temperatura determinada, la duración de la llamada de *A. cisternasii* es mayor que la de *A. o. boscai*. De forma similar, la población de las Sierras Béticas (*A. dickbilleni*) muestra una pendiente similar que la de *A. o. almogavarii* de Formigal, pero difieren significativamente en sus interceptos. Finalmente, existe una mayor homogeneidad entre las líneas de regresión de las diferentes poblaciones de *A. obstetricans*. Las poblaciones de Aliste y Gredos, claramente pertenecientes a *A. o. boscai* (ARNTZEN y GARCÍA-PARÍS 1995), muestran pendientes similares y sólo diferencias en la elevación. Por otro lado, la población de Formigal muestra una pendiente y elevación similares a la población de Peñalara.

DISCUSIÓN

La mayoría de los estudios comparativos publicados sobre la bioacústica de anuros con implicaciones taxonómicas sólo comprenden grupos de neobatracios (p.e. LITTLEJOHN 1988; SCHNEIDER *et al.* 1993; COCROFT Y RYAN 1995; MÁRQUEZ *et al.* 1995). En la mayoría de estos casos, las llamadas analizadas son pulsadas (amplitud modulada) y frecuentemente la complejidad de la estructura y secuencia de los pulsos permite la medición de un gran número de variables en el dominio temporal que a veces se utilizan en análisis multivariantes (p.e. SCHNEIDER Y SINSCH 1991; MÁRQUEZ *et al.* 1993). Por otra lado, existen muchos menos estudios que involucren grupos de mesobatracios (ver SCHNEIDER 1966; PAILLETTE *et al.* 1992), y la información disponible sobre comparaciones de llamadas de táxones primitivos tales como los discoglossidos es mucho más escasa, y frecuentemente están limitados a meras descripciones (SCHNEIDER 1966; HEINZMANN 1970; CRESPO *et al.* 1989; MÁRQUEZ Y BOSCH 1996). La mayoría de las especies de Discoglossidae y Bombinatoridae tienen llamadas tonales sumamente simples, con envolventes suaves y sin modulación marcada de frecuencia. La ausencia de características temporales marcadas hace imposible el estudio multivariante. El único estudio comparativo publicado sobre la bioacústica de varios táxones del género fue realizado por SCHNEIDER *et al.* (1986). Dicho estudio proporciona varios ejemplos de relaciones bivariantes que pueden ayudar a discriminar entre grupos en el género *Bombina*, pero sus resultados no podían ser contrastados con ningún estudio filogenético basado en caracteres genéticos en este género. Otra diferencia entre nuestros resultados y los estudios bioacústicos previos de *Bombina* y *Alytes* es que, en nuestro estudio, no se aprecia un efecto importante de la temperatura sobre la frecuencia de la llamada. Esta leve relación, aunque significativa, fue apuntada para *A. o. boscai*, y de forma no significativa para *A. cisternasii* por CRESPO *et al.* (1989), si bien estos autores no corrigieron el efecto de tamaño del macho. En las especies de *Bombina* europeas y sus híbridos, sin embargo, la relación entre la temperatura y la frecuencia parece ser claramente importante (LÖRCHER 1969; SCHNEIDER *et al.* 1986). En estos estudios, las observaciones sobre los mismos individuos a diferentes temperaturas demuestran claramente que la tendencia es válida y difundida. Sin embargo, esto es solamente cierto para un rango muy amplio de temperaturas que nunca se dan en la naturaleza durante la estación reproductora. La ausencia de una relación destacable entre la temperatura y frecuencia dominante de la llamada en nuestros datos indica que, para todas las temperaturas corporales consideradas en nuestras grabaciones (6.5-19.4°C), la frecuencia dominante tendría probablemente un alto valor

predictivo del tamaño del macho, sin que la temperatura fuese un factor engañoso.

Es interesante observar en nuestro estudio que la simple relación bivalente entre la duración de la llamada y la temperatura cloacal parece ser un adecuado parámetro bioacústico para discriminar entre grupos taxonómicos. Las similitudes bioacústicas encontradas entre las poblaciones de *Alytes* estudiadas coinciden estrechamente con las diferencias encontradas entre poblaciones por ARNTZEN y GARCÍA-PARÍS (1995) y GARCÍA-PARÍS (1995) basadas en comparaciones de morfología y aloenzimas. Una relación similar entre aspectos temporales de las llamadas y la temperatura fue apuntada como un buen factor discriminatorio entre táxones de *Rana* por SCHNEIDER y SINSCH (1991), y STEINWARZ y SCHNEIDER (1991).

GERHARDT (1991) estableció una importante dicotomía en el estudio de la bioacústica de los anuros. Este autor denominó caracteres "dinámicos" a los caracteres que muestran un grado alto de variación intra-individual, y demostró que estos caracteres reflejan en cierta medida el vigor de los machos o su condición física, y que generalmente eran seleccionados mediante la elección de la hembra. Por otra lado, GERHARDT (1991) llamó caracteres "estáticos" a las propiedades de las llamadas que mostraban menos variación intra-individual. La media, o valores cercanos a esa media, de dichos caracteres estáticos de las llamadas, fueron preferidos en general por las hembras en los experimentos de fonotaxis, ejerciendo por tanto una selección estabilizadora. Por tanto, estos últimos caracteres de las llamadas se usarían probablemente para transmitir mensajes específicos siendo importantes para el reconocimiento de especies. Nuestros datos determinan que la frecuencia dominante de la llamada y su duración son caracteres "estáticos" del individuo con una baja variación intra-individual (<0.06 C.V.) mientras que el intervalo entre llamadas es una característica "dinámica" con alta variación intra-individual (>0.25 C.V.). La frecuencia de la llamada tiene un papel importante en la selección sexual en *Alytes* donde se ha encontrado que las hembras prefieren las llamadas de frecuencia más baja correspondientes a machos más grandes (MÁRQUEZ 1995a). Por otro lado, parece ser que la mejor característica para discriminar entre táxones de *Alytes*, sería la información temperatura-específica temporal (p.e. duración de la llamada). Presumiblemente, este carácter sería el factor determinante para el reconocimiento de especies en áreas de simpatria. Sin embargo, este aspecto requiere un ajuste en la sensibilidad del aparato auditivo de las hembras y el aparato vocal de los machos. Este relación ha sido señalada en algunas especies de anuros (GERHARDT 1978a). Sin embargo, este fenómeno sería menos creíble en *Alytes* donde se conoce que los machos pueden llamar desde dentro de sus refugios (subterráneo o en grietas en las rocas) y por lo tanto su temperatura corporal podría ser muy diferente a la de una

hembra próxima expuesta a la temperatura del exterior (más de 10 °C).

La distribución geográfica de los táxones del género *Alytes* ha sido recientemente redefinida por ARNTZEN y GARCÍA-PARÍS (1995) y GARCÍA-PARÍS (1995), aunque la caracterización de los diferentes táxones no se hizo en base a un número grande de muestreos de poblaciones por taxon. Particularmente, los límites de la distribución de las tres subespecies reconocidas de *Alytes* en España hasta la fecha, no han sido definidas claramente, y especialmente permanece sin aclarar la caracterización de las poblaciones del centro y del este de España (Madrid, Guadalajara, Cuenca, Teruel y Valencia). Una de las poblaciones que ha permanecido hasta hace poco con incierta denominación subespecífica es la población de Peñalara (Madrid) que se incluye en nuestro estudio. Basándose en la relación entre la duración de la llamada y la temperatura, esta población presenta más afinidades bioacústicas con *A. o. almogavarii* de Formigal, que con *A. o. boscai* de Gredos o Aliste, que son poblaciones geográficamente más cercanas. Este resultado ha sido recientemente corroborado por análisis de aloenzimas (GARCÍA-PARÍS 1995), por lo que podría decirse que esta población representa una extensión hacia el suroeste en el centro de la Península Ibérica de la distribución de *A. o. almogavarii*. Si estudios adicionales confirman el poder discriminatorio de la relación entre duración de la llamada y temperatura, el análisis de las llamadas de apareamiento en *Alytes* sería un método conveniente para adscribir poblaciones a diferentes táxones. Sin embargo, es importante señalar una cuestión sobre este método: es esencial que la temperatura se refiera a la temperatura corporal del animal analizado, ya que tomar la temperatura del suelo o del aire, o de igual forma la de un animal diferente al que se haya registrado, puede ocasionar un grave error que limitaría el poder discriminatorio de la regresión.

Tabla 3.1

Población	SVL (mm)	Temperatura cloacal (°C)	Duración (ms)	Frecuencia dominante (Hz)	Intervalo entre llamadas (ms)
<i>A. obstetricans</i> Formigal	42.6 (4.4) 36.0-52.0 n=24	11.2 (2.2) 8.2-15.0 n=24	155.4 (32.5) 112.5-234.4 C.V.=0.053 n=24	1241.3 (85.5) 1080.2-1427.8 C.V.=0.009 n=24	4386.4 (2373.9) 1501.9-10097.0 C.V.=0.476 n=24
<i>A. obstetricans</i> Aliste	37.4 (3.6) 30.5-42.5 n=31	13.4 (2.7) 7.3-17.5 n=31	108.6 (20.8) 75.8-163.7 C.V.=0.047 n=32	1387.2 (111.0) 1232.0-1662.2 C.V.=0.01 n=32	3399.1 (2026.3) 1134.6-7760.6 C.V.=0.432 n=31
<i>A. obstetricans</i> Gredos	37.0 (2.0) 32-41.5 n=57	12.9 (3.2) 6.7-18.4 n=58	119.4 (23.0) 84.4-195.0 C.V.=0.04 n=57	1330.2 (69.5) 1191.1-1520.4 C.V.=0.015 n=57	4199.4 (1397.0) 2425.4-8615.7 C.V.=0.301 n=16
<i>A. obstetricans</i> Peñalara	44.9 (2.2) 42.1-49.6 n=16	12.8 (2.3) 8.8-17.0 n=15	115.1 (26.3) 81.7-194.0 C.V.=0.035 n=57	1158.7 (69.1) 1035.4-1375.4 C.V.=0.008 n=57	2960.3 (1645.2) 871.5-7442.6 C.V.=0.259 n=56
<i>A. cisternasii</i> Mérida	36.7 (2.7) 27.0-42.0 n=58	14.3 (1.8) 11.8-19.4 n=59	177 (25.9) 126.0-250.5 C.V.=0.043 n=60	1471.1 (85.5) 1332.7-1644.5 C.V.=0.009 n=60	3322.9 (1385.6) 818.7-6936.8 C.V.=0.329 n=59
<i>A. dickhilleni</i> S. Béticas	42.0 (41.0) 37.5-56.5 n=36	12.8 (2.5) 6.5-17.8 n=38	166.3 (35.9) 113.7-307.9 C.V.=0.051 n=50	1382.6 (84.3) 1151.0-1559.8 C.V.=0.013 n=50	5884.6 (2310.4) 1148.7-14798.6 C.V.=0.427 n=48

Media, desviación estándar (entre paréntesis), rango, tamaño de la muestra, y coeficiente de variación para el tamaño (SVL), temperatura cloacal, y tres parámetros de las llamadas.

La media, desviación estándar y rangos se calcularon a partir de valores medios de cada individuo.

Los coeficientes de variación representan la media de los coeficientes de variación de cada individuo.

Tabla 8.2

Población	Duración		Frecuencia dominante		Intervalo entre llamadas	
	n° grupos	H	n° grupos	H	n° grupos	H
<i>A. obstetricans</i> Formigal	23	191.0***	23	204.6***	23	125.8***
<i>A. obstetricans</i> Aliste	32	309.4***	32	330.2***	31	200.2***
<i>A. obstetricans</i> Gredos	57	575.3***	57	1676.6***	18	93.9***
<i>A. obstetricans</i> Peñalara	57	502.5***	57	489.7***	54	350.2***
<i>A. cisternasii</i> Mérida	57	474.6***	57	540.4***	57	348.6***
<i>A. dickhilleni</i> S. Béticas	50	394.6***	50	438.2***	49	157.8***

*Kruskal Wallis ANOVA para tres parámetros del canto (el n° de grupos se refiere al n° de machos analizado en cada población) (***) $p < 0.001$). Todas las grabaciones de un individuo fueron obtenidas en la misma sesión de grabación.*

Tabla 3.3

SVL-frecuencia dominante

Población	n	r	pendiente	intercepto
<i>A. obstetricans</i> Formigal	24	0.651***	-12.13	1781.80
<i>A. obstetricans</i> Aliste	31	0.589***	-18.13	2067.24
<i>A. obstetricans</i> Gredos	57	0.431***	-14.84	1878.79
<i>A. obstetricans</i> Peñalara	16	0.611*	-8.75	1549.31
<i>A. cisternasii</i> Mérida	58	0.706***	-22.8	2309.30
<i>A. dickhilleni</i> S. Béticas	36	0.461**	-9.13	1772.55

Temperatura cloacal-duración

Población	n	r	pendiente	intercepto
<i>A. obstetricans</i> Formigal	24	0.784***	-11.37	286.45
<i>A. obstetricans</i> Aliste	31	0.813***	-6.24	191.67
<i>A. obstetricans</i> Gredos	57	0.842***	-6.08	197.18
<i>A. obstetricans</i> Peñalara	15	0.896***	-11.13	272.04
<i>A. cisternasii</i> Mérida	59	0.485***	-6.69	271.63
<i>A. dickhilleni</i> S. Béticas	38	0.836***	-12.42	331.98

Temperatura cloacal-intervalo entre llamadas

Población	n	r	pendiente	intercepto
<i>A. obstetricans</i> Formigal	24	0.462*	-503.59	10028.68
<i>A. obstetricans</i> Aliste	30	0.639***	-472.8	9712.07
<i>A. obstetricans</i> Gredos	16	0.591*	-349.79	8239.52
<i>A. obstetricans</i> Peñalara	14	0.377 n.s.	-308.89	7237.14
<i>A. cisternasii</i> Mérida	58	0.140 n.s.	-107.51	4848.00
<i>A. dickhilleni</i> S. Béticas	36	0.125 n.s.	-117.1	7606.47

Correlaciones entre SVL y frecuencia dominante de la llamada, temperatura cloacal y duración de la llamada, y temperatura cloacal e intervalo entre llamadas

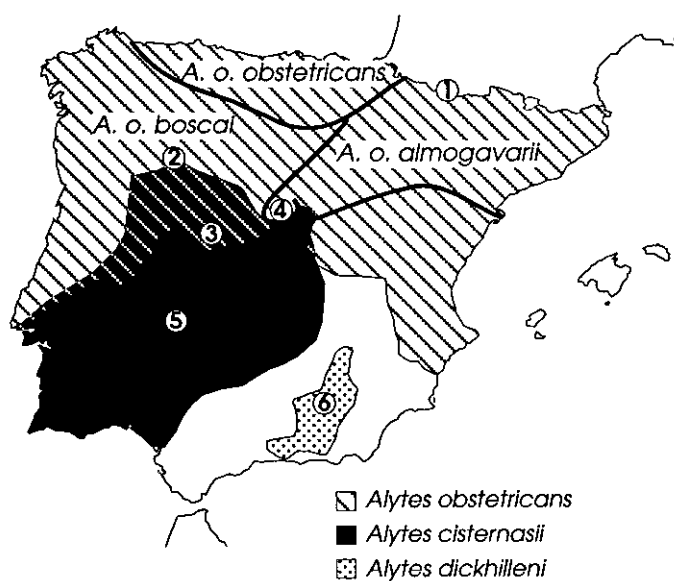
*(n.s.: no significativo, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).*

Tabla 8.4

	<i>A. obstetricans</i> Formigal	<i>A. obstetricans</i> Aliste	<i>A. obstetricans</i> Gredos	<i>A. obstetricans</i> Peñalara	<i>A. cistemasil</i> Mérida	<i>A. dickhilleni</i> S. Béticas
<i>A. obstetricans</i> Formigal	-	11.27***	14.12***	0.41 n.s.	15.58***	3.2*
<i>A. obstetricans</i> Aliste	-	-	0.35 n.s.	7.59***	1.11 n.s.	14.55***
<i>A. obstetricans</i> Gredos	-	7.47**	-	8.55***	1.97 n.s.	18.81***
<i>A. obstetricans</i> Peñalara	1.40 n.s.	-	-	-	8.13***	2.29 n.s.
<i>A. cistemasil</i> Mérida	-	287.91***	362.17***	-	-	22.74***
<i>A. dickhilleni</i> S. Béticas	42.9***	-	-	56.31***	-	-

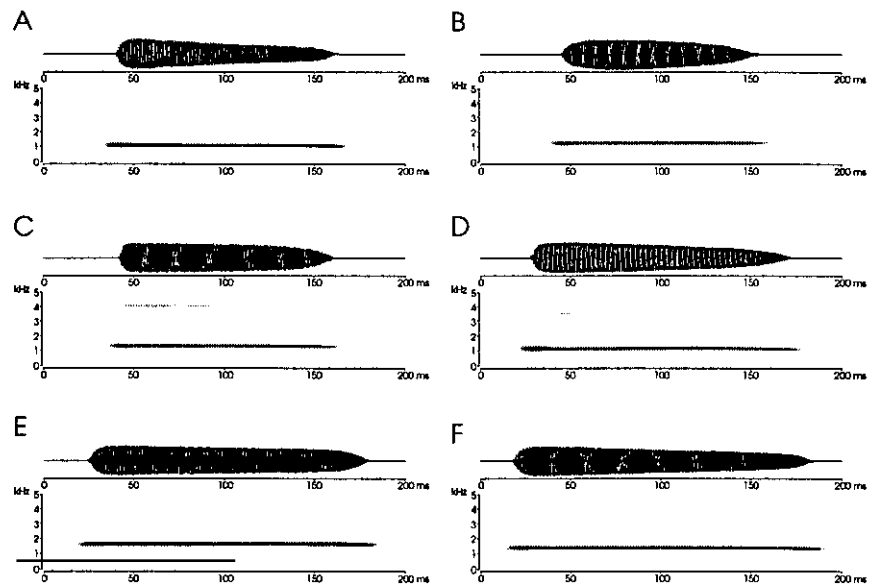
Análisis de covarianza (ANCOVA) para la temperatura cloacal y la duración de la llamada.
Por encima de la diagonal se muestran los resultados de los tests de Tukey para cada par de poblaciones.
Por debajo de la diagonal aparecen los resultados de los ANCOVAs para pendientes similares
*(según Zar 1984; n.s.: no significativo, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).*

Figura 3.1



Distribución de las especies y subespecies de Alytes en la Península Ibérica con la localización de las poblaciones estudiadas. 1) Formigal, 2) Aliste, 3) Gredos, 4) Peñalara, 5) Mérida, 6) S. Béticas.

Figura 3.2



Oscilogramas y audiospectrogramas característicos de la llamada de 6 machos de las poblaciones estudiadas.

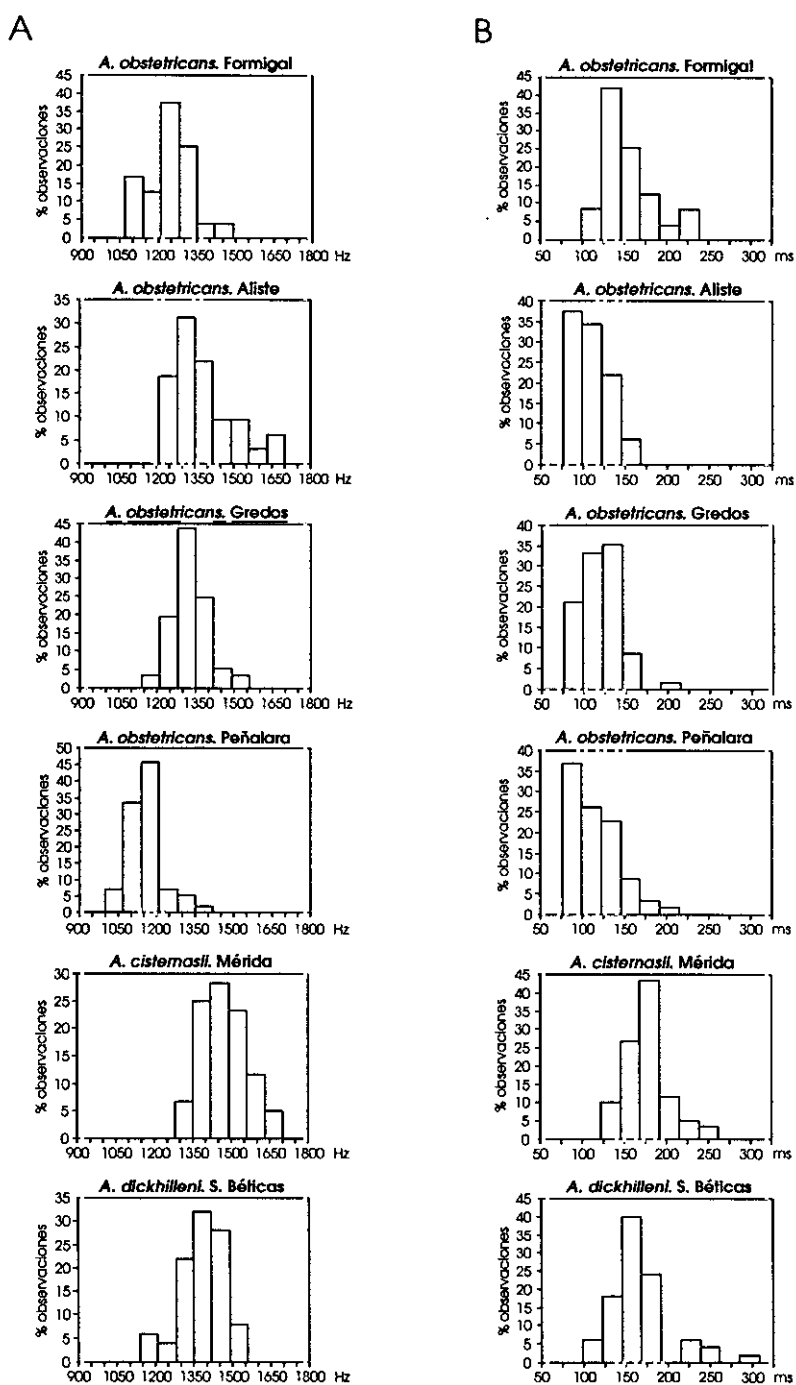
La temperatura cloacal de todos los individuos era similar ($13.5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$).

A) Formigal: SVL 48.5 mm, temp. 12.8°C ; B) Aliste: SVL 38 mm, temp. 14.5°C ;

C) Gredos: SVL 36.5 mm, temp. 12.8°C ; D) Peñalara: SVL 43 mm, temp. 13°C ;

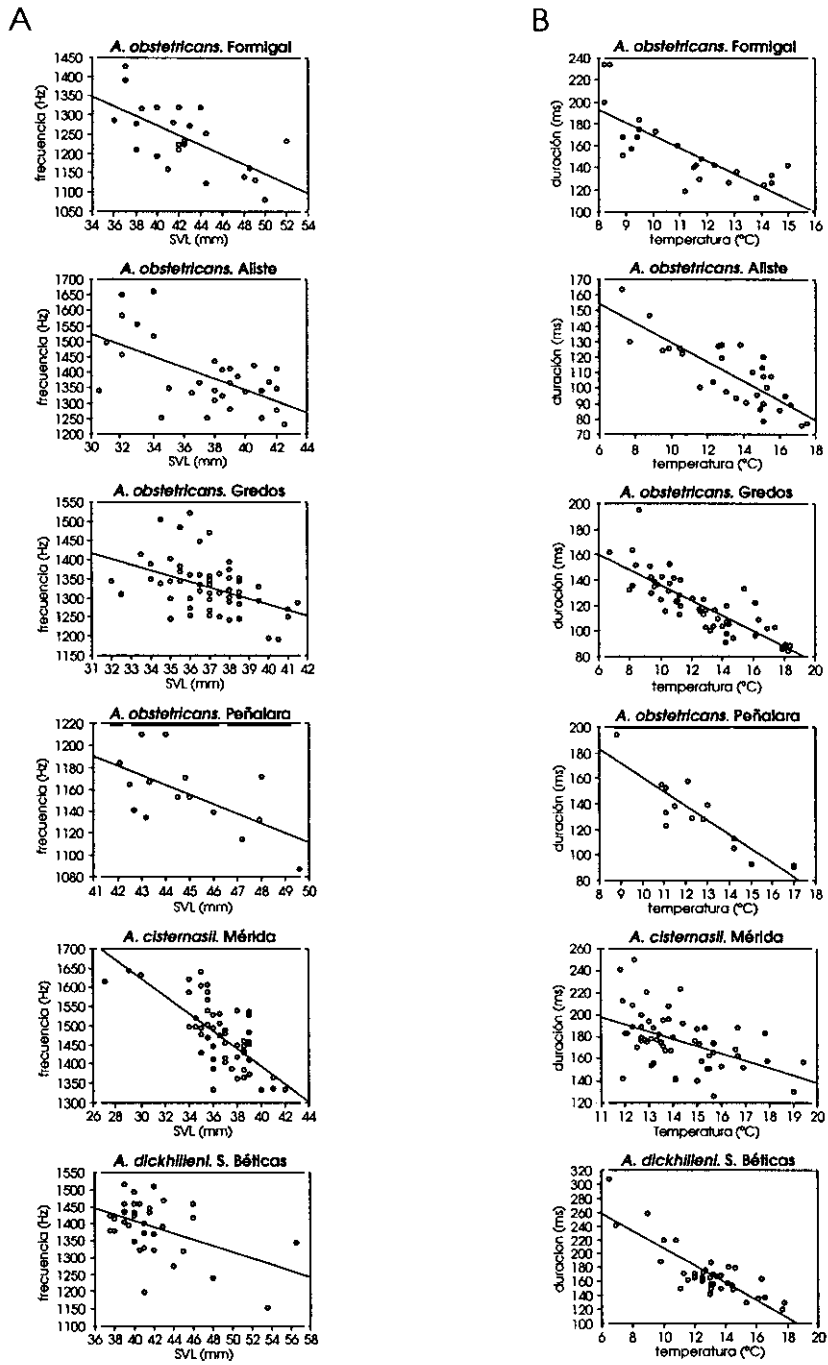
E) Mérida: SVL 35 mm, temp. 13.1°C ; F) S. Béticas: 41 mm, 12.5°C .

Figura 3.8



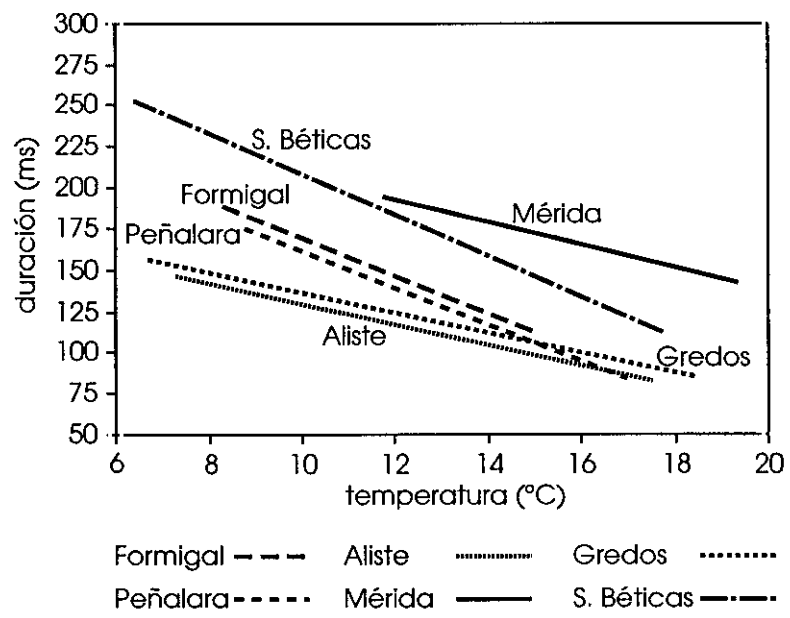
Distribución de la frecuencia dominante (A) y la duración de las llamadas (B) en las 6 poblaciones estudiadas.

Figura 8.1



Regressiones lineales entre el SVL y la frecuencia dominante (A) y entre la temperatura cloacal y la duración de la llamada (B) en las 6 poblaciones estudiadas.

Figura 3.5



Rectas de regresión de la temperatura cloacal y duración de la llamada en las poblaciones estudiadas.

Capítulo 4

FUNCIONES DISCRIMINANTES PARA
EL SEXO EN ALYTES OBSTETRICANS
Y ALYTES CISTENASII

Basado en:

BOSCH, J., y MÁRQUEZ, R., 1996. Discriminant functions for sex identification in two midwife toads
(*Alytes obstetricans* and *A. cisternasii*). *Herpetol. J.* , 6: 105-109.

RESUMEN

*La determinación visual del sexo de los ejemplares de las especies de *Alytes* en el campo no es fácil para el investigador.*

*Las hembras sin huevos maduros o los machos sin puesta son complicados de distinguir entre sí. En este capítulo se proporciona un método matemático para determinar el sexo de los individuos basado en el estudio de algunas variables morfológicas. Algunas de las 15 variables morfológicas analizadas muestran diferencias significativas entre sexos si se corrige por el tamaño del animal. Un análisis discriminante entre sexos muestra un alto poder de discriminación (95 % en *A. obstetricans* y 97.6 % en *A. cisternasii*).*

*Las variables significativas en *A. obstetricans* son: longitud hocico-cloaca, distancia entre narinas, distancia entre el extremo distal del tubérculo metacarpal y la punta del tercer dedo, y la distancia entre el codo y la punta del tercer dedo.*

*Las variables significativas para *A. cisternasii* son: anchura de la cabeza, longitud de la mandíbula inferior, diámetro vertical del tímpano, distancia entre narinas y longitud de la tibiofíbula.*

INTRODUCCIÓN

DARWIN (1871) señaló: "It is surprising that frogs and toads should not have acquired more strongly-marked sexual differences; for though cold-blooded, their passions are strong" (Es sorprendente que ranas y sapos no hayan adquirido diferencias sexuales más marcadas; pues aunque de sangre fría, sus pasiones son fuertes).

Los adultos de los sapos parteros (género *Alytes*) son un buen ejemplo de la similitud que existe entre los sexos ya que carecen de caracteres sexuales secundarios, tanto permanentes como estacionales. Durante la estación reproductora, los machos difieren de las hembras porque aquellos emiten llamadas mucho más frecuentemente y a mayor volumen que las hembras; sin embargo, la intensidad de la llamada no es una característica adecuada para discriminar entre sexos ya que es muy difícil observar individuos llamando (HEINZMANN 1970; MÁRQUEZ y VERRELL 1991). Como ya hemos visto, los sapos parteros presentan cuidado paternal masculino de los huevos en tierra. Durante parte del período reproductor, los machos llevan una ristra de huevos enrollados en las tibias, y por tanto, se reconocen fácilmente. De forma similar, las hembras que contienen huevos maduros en el oviducto pueden identificarse como tales observándolos a través de la piel transparente en el inferior de su abdomen. Sin embargo, fuera de estas situaciones especiales, es virtualmente imposible diferenciar un macho silencioso que no lleve huevos de una hembra sin huevos en los oviductos.

CRESPO (1982a) estudió las diferencias entre ambos sexos en 23 variables osteológicas y encontró que en *A. obstetricans boscai* ninguna de las variables difería significativamente entre sexos, mientras que en *A. cisternasii* sólo una de la 23 variables analizadas mostró diferencias significativas. En general, los tamaños relativos mayores de algunos segmentos de las extremidades de los machos y el tamaño absoluto

mayor del cuerpo de las hembras (ver también MÁRQUEZ *et al.* 1997) son los únicos caracteres morfológicos evidentes para discriminar entre sexos. GARCÍA-PARÍS (1992) encontró bajos niveles de dimorfismo sexual en cuatro poblaciones de *Alytes*, siendo la anchura de la cabeza la única variable que presentaba un marcado dimorfismo sexual en todas ellas. En dicho estudio, las variables que presentaron diferencias importantes entre sexos en una población de *A. obstetricans* fueron la anchura de la cabeza y la distancia mínima del ojo a la narina.

El poder sexar a los individuos adultos de *Alytes* en el campo puede ser esencial en estudios etológicos o ecológicos, y particularmente en estudios con fines de conservación (GARCÍA-PARÍS 1992). Aunque en todos los apartados de este trabajo se ha contado con ejemplares sexados en base a los caracteres antes citados, hemos considerado de gran interés para posteriores estudios, desarrollar un método que permita la determinación del sexo de individuos adultos con un alto grado de exactitud. El análisis discriminante es una técnica ampliamente utilizada (p.e. VANVARK y SCHAAFSMA 1992), y se trata de un método para predecir alguno de los niveles de una clasificación basándose en la respuesta de valores conocidos. Aunque esta técnica no ha sido muy usada para reconocer el sexo de especies de anuros difíciles de sexar en el campo, se ha utilizado frecuentemente con resultados satisfactorios para resolver problemas taxonómicos en grupos complejos (p.e. HEYER 1978).

Por tanto, el objetivo fundamental de este capítulo es generar un método que permita en la naturaleza y en todo momento, sexar a los individuos indeterminados de forma cómoda y eficaz.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han estudiado dos poblaciones de *Alytes*, una de *A. obstetricans* y otra de *A. cisternasii*. La población estudiada de *A. obstetricans* se encuentra en las inmediaciones de la laguna Grande de Peñalara. Como vimos en el capítulo anterior, los datos bioacústicos y electroforéticos sugieren que esta población puede considerarse perteneciente a la recientemente descrita subespecie *A. o. almogavarii* (ARNTZEN y GARCÍA-PARÍS 1995). La población estudiada de *A. cisternasii* se encuentra en Mérida (Badajoz).

Se midieron un total de 20 machos y 20 hembras de *A. obstetricans* y 21 machos y 20 las hembras

de *A. cisternasii*. En todos los casos las mediciones se tomaron en individuos vivos que se liberaron inmediatamente después de ser medidos. Las medidas se tomaron con un calibre digital Mitutoyo CD-15 (precisión 0.01 mm) o con un calibre convencional DEMM (precisión 0.05 mm). El sexo de todos los individuos medidos era conocido. Sólo se utilizaron machos que fueron observados cantando, o machos capturados después de ser observados liberando sus masas de huevos en el agua. De igual forma, sólo se utilizaron hembras grávidas que presentaban huevos desarrollados de forma evidente bajo la piel transparente inferior del abdomen.

Se midieron un total de 15 variables morfológicas, que aparecen señaladas en la tabla 4.1 (pág. 48). La longitud-hocico cloaca (SVL) como siempre, se tomó presionando los individuos en su cara ventral contra una regla. Todas las variables sujetas a simetría bilateral se midieron en el lado derecho.

Los análisis estadísticos se realizaron con las aplicaciones SPSS 5.0, Statistica 4.1 y Statview 4.1. Se utilizó un análisis discriminante por pasos con una p de entrada de 0.05, y una p de salida de 0.10.

RESULTADOS

La media, desviación estándar y rangos de todas las variables morfológicas analizadas para ambos sexos y ambas especies aparecen en la tabla 4.2 (pág. 49). Estos datos, sin corregir por el tamaño del animal, muestran que en *A. obstetricans*, para la mayoría de las medidas (9/15, 60%), las hembras son significativamente mayores que los machos, mientras que en *A. cisternasii* sólo 4 de 15 variables (36%) mostraron diferencias significativas.

Las variables fueron transformadas logarítmicamente para corregir el efecto alométrico del crecimiento continuo, y para minimizar las diferencias entre varianzas. Para cada especie, cada una de dichas variables transformadas se usó en una regresión lineal con el SVL, y se tomaron los residuos de estas regresiones para estudiar las diferencias entre sexos.

Después de este proceso, 5 de las 14 variables (36%) mostraron diferencias importantes entre sexos en *A. obstetricans* (HT, $t = -2.74$, $p = 0.0094$; ND, $t = -2.20$, $p = 0.0341$; TL, $t = -2.35$, $p = 0.0238$; FTL, $t = -3.06$, $p = 0.004$; EFD, $t = -3.69$, $p = 0.0007$), y 6 de 14 (43%) en *A. cisternasii* (HT, $t = -3.20$, $p = 0.0027$; VT, $t = -$

3.59, $p=0.0009$; EW, $t= -2.31$, $p=0.0263$; TFL, $t= -3.55$, $p= 0.001$; HLL, $t= -2.69$, $p=0.0105$; EFD, $t p= 0.0045$). Sólo dos de estas variables (HT y EFD) mostraron diferencias importantes entre sexos en ambas especies.

Un análisis de componentes principales (fig. 4.1, pág. 50) muestra la gran similitud morfológica entre los individuos de ambos sexos en ambas especies.

Se realizó un análisis discriminante para obtener un sistema de clasificación de individuos de sexo desconocido. Se aplicó un análisis discriminante por pasos para cada especie para obtener funciones discriminantes que maximicen la clasificación correcta de individuos. Los histogramas de los scores de las funciones discriminantes se muestran en la figura 4.2 (pág. 51). La función discriminante para el sexo obtenida en *A. obstetricans* es: $0.8782 \times \text{SVL} - 2.0082 \times \text{ND} - 1.4129 \times \text{FTL} - 1.0611 \times \text{EFD} - 2.6330$, siendo el punto de corte 0.0000. Para *A. cisternasii* la función discriminante obtenida es: $1.5344 \times \text{HW} + 1.4455 \times \text{JL} - 1.9878 \times \text{VT} + 3.7914 \times \text{ND} - 2.1746 \times \text{TFL} - 13.4771$, y el punto de corte es 0.0368. Si el valor obtenido en la función está por encima del punto de corte, el diagnóstico será hembra, si está por debajo, el diagnóstico será macho. Para *A. obstetricans* sólo cuatro variables fueron incluidas en la función (SVL, ND, FTL y EFD), mientras que para *A. cisternasii* se incluyeron cinco variables (HW, JL, VT, ND y TFL) (fig. 4.3, pág. 52). La función discriminante obtenida para *A. obstetricans* clasifica correctamente el 95% de los individuos (100% de las hembras y 90% de los machos), mientras que la función obtenida para *A. cisternasii* clasifica correctamente el 97.56% de los individuos (95% de las hembras y 100% de los machos).

Otros análisis discriminantes se realizaron tomando las variables de una en una. En *A. obstetricans* la variable JL mostró el mayor poder discriminatorio, clasificando correctamente el 80% de los individuos (90% de las hembras y 70% de los machos). Para *A. cisternasii* la variable con mayor poder discriminatorio fue ND, que clasificó correctamente el 83% de los casos (80% de las hembras y 86% de los machos). Para *A. obstetricans* si $14.132 \times \text{JL} - 107.131 > 12.959 \times \text{JL} - 90.199$, entonces el individuo se clasifica como hembra; para *A. cisternasii*, si $111.062 \times \text{ND} - 191.467 > 105.543 \times \text{ND} - 172.930$, entonces el individuo se clasifica como hembra.

DISCUSIÓN

En *A. obstetricans* las hembras parecen ser consistentemente más grandes en tamaño que los machos, mientras en *A. cisternasii*, las diferencias están menos marcadas.

Las medidas relativas al tamaño del tímpano (HT, VT) son proporcionalmente más grandes en los machos, aunque las diferencias no son significativas en tres de las cuatro variables en valores absolutos. Esto podría ser resultado de la presión selectiva impuesta por la vocalizaciones sobre la estructura auditiva. Se supone que machos y hembras tienen sus sistemas auditivos sintonizados en los mismos rangos de frecuencia (determinado por los rangos de las llamadas de apareamiento de los machos en sus poblaciones), y dado que el tamaño del tímpano puede tener efecto sobre la frecuencia de sintonización (SHOFNER y FENG 1984), éste debería ser semejante en machos y hembras. Como los machos tienen tallas corporales menores, se explicaría la diferencia observada en el tamaño relativo de los tímpanos.

De forma similar, el tamaño relativo de los brazos (EFD) es mayor en los machos de ambas especies, posiblemente reflejando las presiones selectivas para la habilidad en el amplexo. Por otra parte, los miembros inferiores (TFL, HLL) son sólo significativamente más grandes en los machos de *A. cisternasii*. Estas diferencias podrían ser el resultado de la selección para el mejor transporte y manipulación de la puesta, aunque esta tendencia no puede ser tan clara en *A. obstetricans* porque, en promedio, los machos de dicha especie transportan masas de huevos que son proporcionalmente menos pesadas en relación al peso del cuerpo (R. Márquez, com. pers.).

Las funciones discriminantes obtenidas permiten la determinación de sexos en base a un número razonable de variables morfológicas en cada especie, por lo menos para los individuos adultos de las poblaciones que se estudiaron. En efecto, el porcentaje de clasificación correcta cuando se usa sólo una variable (80% en *A. obstetricans* y 83% en *A. cisternasii*) puede ser suficiente para algún estudio. Sin embargo, hay que tener especial cuidado en utilizar estas funciones discriminantes en otras subespecies de *Alytes*, o en muestras que incluyan tamaños corporales fuera del rango de este estudio. ARNTZEN y GARCÍA-PARÍS (1995) demostraron que existe una marcada variación geográfica dentro y entre especies de *Alytes*, aunque el estudio no consideró el dimorfismo sexual dentro de las poblaciones, y algunas de las diferencias observadas podrían ser atribuibles a diferencias en la proporción de sexos del muestreo entre poblaciones

o especies.

Este estudio es un ejemplo de una herramienta metodológica que puede ser utilizada en casos como los descritos, pero para generar funciones discriminantes válidas para poblaciones concretas deben usarse datos de individuos de sexo conocido de esas poblaciones. Esta metodología puede aplicarse en el estudio de otras poblaciones de *Alytes* o en otras especies de anuros con escaso dimorfismo sexual, donde la determinación de la relación de sexos es primordial. Todas las medidas deberían tomarse de un número creciente de ejemplares hasta alcanzar un número suficiente de individuos de sexo conocido que proporcionen el porcentaje de clasificación correcto deseado. Entonces pueden obtenerse las funciones discriminantes y el sexo de individuos indeterminados previamente observados puede determinarse *a posteriori*. Después, midiendo únicamente las variables incluidas en la función discriminante de cualquier nuevo individuo observado puede determinarse su sexo.

Esta técnica puede ser usada en el estudio de poblaciones relictas de *Alytes* tales como el sapo partero de Mallorca, *Alytes muletensis* cuyo plan de recuperación se realiza en la actualidad, y posiblemente en otras especies amenazadas de sapo de partero, como el recientemente descrito *A. dickhilleni* (ARNTZEN y GARCÍA-PARÍS 1985), que presenta poblaciones aisladas y muy reducidas (MÁRQUEZ *et al.* 1994). De igual forma, esta metodología puede ser usada durante todo el año en estudios de campo de poblaciones de otras especies de anuros que sólo presentan caracteres sexuales secundarios durante la época de reproducción tales como especies de los géneros *Discoglossus* o *Rana*.

Tabla 4.1

SVL	Longitud hocico-cloaca
HW	Anchura de la cabeza (entre tímpanos)
JL	Longitud de la mandíbula inferior
ED	Distancia mínima entre ojos
HT	Diámetro horizontal del tímpano
VT	Diámetro vertical del tímpano
EW	Anchura del ojo
ND	Distancia entre narinas
END	Distancia mínima entre el ojo y la narina
TFL	Longitud de la tibiafibula
HLL	Longitud del miembro posterior
TL	Distancia entre el tubérculo tarsal y la punta del tercer dedo
FTL	Distancia entre el extremo distal del tubérculo metacarpal y la punta del tercer dedo
FL	Longitud del tercer dedo
EFD	Distancia entre el codo y la punta del tercer dedo

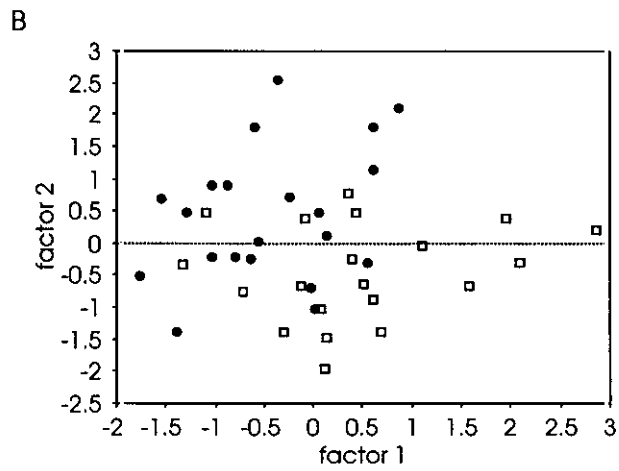
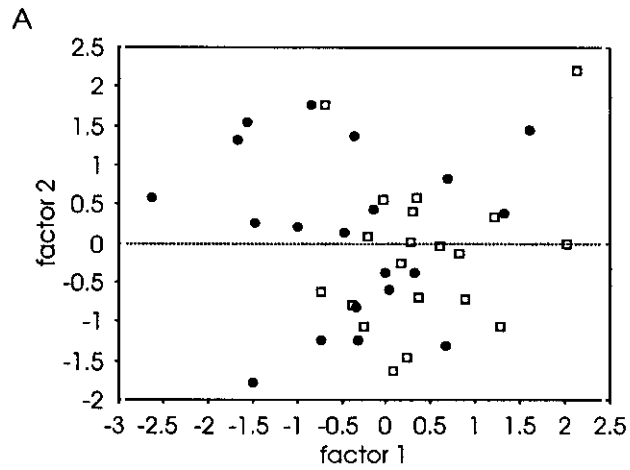
Variables morfológicas analizadas y abreviaturas empleadas.

Tabla 4.2

<i>A. obstetricans</i>								<i>A. cisternasii</i>												
			n	media	DE	mín.	máx.	t	p				n	media	DE	mín.	máx.	t	p	
SVL	H	20	51.60	3.04	43.40	58.00	4.94	0.0001		SVL	H	20	39.83	2.82	36.00	46.00	2.69	0.0106		
	M	20	46.15	3.89	38.00	52.00				M	21	37.75	2.08	33.00	41.00					
HW	H	20	15.77	0.74	14.40	17.00	3.91	0.0004		HW	H	20	13.68	0.65	13.00	15.10	1.63	0.1112		
	M	20	14.61	1.10	12.95	16.55				M	21	13.40	0.46	12.45	14.25					
JL	H	20	15.06	0.87	12.60	16.70	3.83	0.0005		JL	H	20	10.77	0.63	9.55	11.85	3.13	0.0033		
	M	20	13.81	1.17	11.67	16.15				M	21	10.17	0.61	8.85	11.00					
ED	H	20	4.11	0.28	3.60	4.65	0.13	0.8972		ED	H	20	4.08	0.23	3.70	4.50	-0.35	0.7287		
	M	20	4.10	0.31	3.54	4.60				M	21	4.11	0.22	3.70	4.50					
HF	H	20	3.74	0.38	2.60	4.35	0.78	0.4426		HF	H	20	3.15	0.25	2.70	3.80	-1.62	0.1130		
	M	20	3.65	0.36	2.73	4.30				M	21	3.30	0.33	2.65	4.00					
VT	H	20	3.81	0.30	2.90	4.10	1.27	0.2114		VT	H	20	2.99	0.30	2.40	3.45	-2.67	0.0111		
	M	20	3.67	0.41	2.62	4.30				M	21	3.22	0.25	2.65	3.55					
EW	H	20	5.04	0.29	4.40	5.82	3.49	0.0013		EW	H	20	3.97	0.21	3.60	4.55	-0.54	0.5946		
	M	20	4.61	0.47	3.75	5.55				M	21	4.01	0.28	3.45	4.45					
ND	H	20	3.99	0.33	3.30	4.87	1.04	0.3068		ND	H	20	3.44	0.16	3.15	3.75	3.11	0.0035		
	M	20	3.88	0.34	3.40	4.44				M	21	3.26	0.19	2.95	3.80					
END	H	20	5.01	0.28	4.40	5.50	4.15	0.0002		END	H	20	3.87	0.21	3.50	4.20	1.81	0.0787		
	M	20	4.53	0.44	3.64	5.10				M	21	3.75	0.21	3.45	4.25					
TFL	H	20	19.02	0.97	17.70	20.85	2.49	0.0171		TFL	H	20	13.16	0.75	12.20	14.85	-1.27	0.2135		
	M	20	17.99	1.58	14.84	19.85				M	21	13.44	0.66	12.25	14.70					
HLL	H	20	64.64	3.38	59.00	70.80	2.95	0.0005		HLL	H	20	46.09	3.30	40.90	53.45	-0.49	0.6279		
	M	20	60.56	5.17	51.21	67.30				M	21	46.54	2.62	40.45	51.60					
TL	H	20	15.71	1.17	13.40	17.65	1.98	0.0054		TL	H	20	12.07	0.97	10.30	13.70	0.48	0.6370		
	M	20	14.84	1.58	11.54	17.80				M	21	11.92	0.93	10.50	13.85					
FTL	H	20	7.86	0.40	6.90	8.49	1.23	0.2273		FTL	H	20	6.03	0.37	5.45	6.80	0.89	0.3782		
	M	20	7.65	0.65	6.34	9.00				M	21	5.91	0.44	5.25	6.90					
FL	H	20	6.11	0.51	5.20	7.01	1.07	0.2929		FL	H	20	3.73	0.29	3.35	4.45	-1.27	0.2105		
	M	20	5.93	0.51	4.59	6.80				M	21	3.86	0.38	3.15	4.60					
EFD	H	20	20.71	1.24	17.50	22.40	2.26	0.0299		EFD	H	20	15.44	0.87	13.60	16.95	-1.34	0.1897		
	M	20	19.69	1.62	16.64	22.30				M	21	15.84	1.03	14.10	18.05					

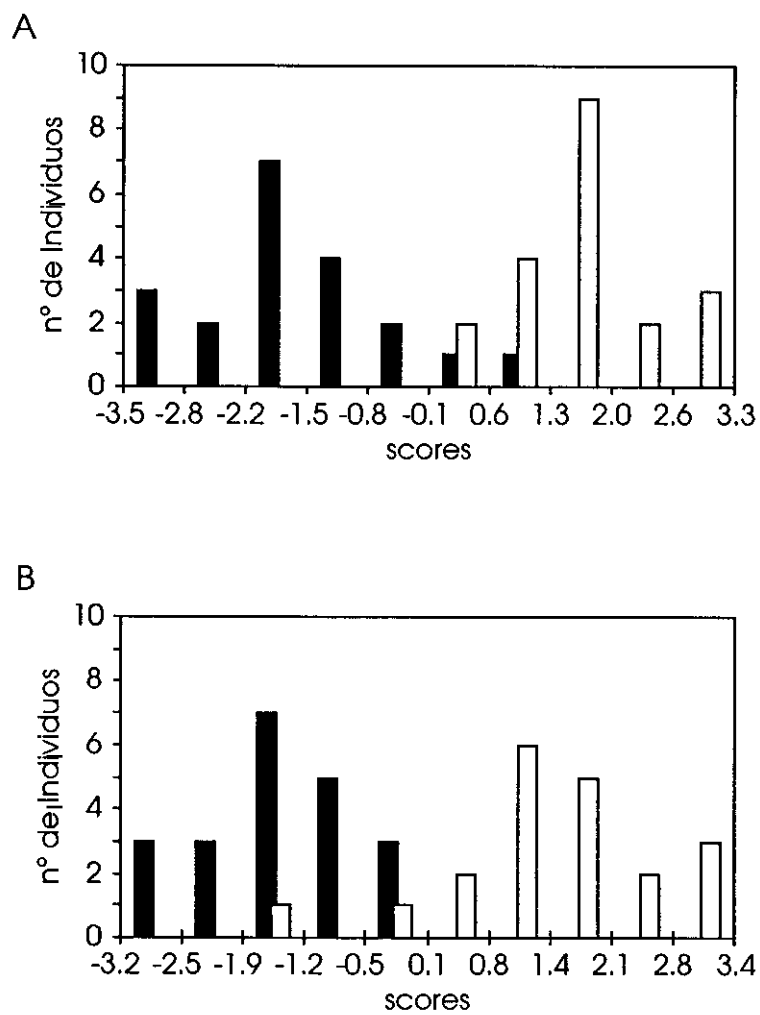
Media, desviación estándar y rangos por sexos, y tests de Student para diferencias entre sexos (valores en milímetros; F, hembras, M, machos)

Figura 4.1



Análisis de componentes principales para ambas especies. A) *A. obstetricans*, B) *A. cisternasii*
(hembras, cuadrados blancos; machos, círculos negros)

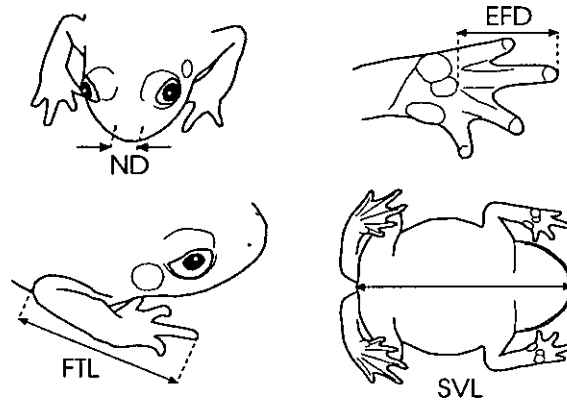
Figura 4.2



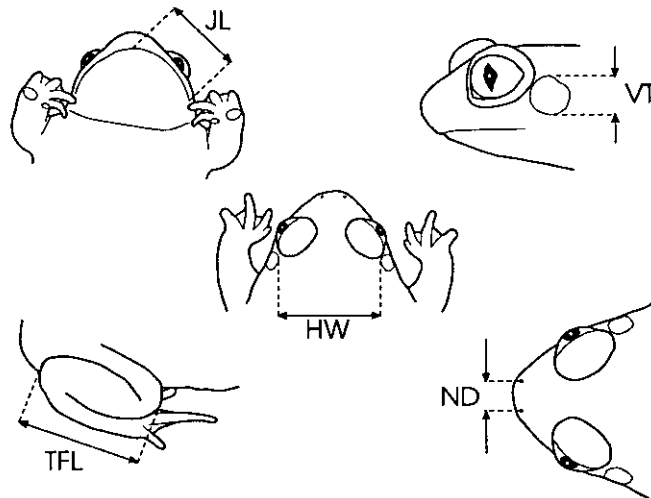
Distribución de los scores de los análisis discriminantes por sexo en ambas especies.
A) *A. obstetricans*, B) *A. cisternasii* (hembras, barras blancas; machos, barras negras).

Figura 4.8

Alytes obstetricans



Alytes cisternasii



Medidas diagnósticas para el sexo en ambas especies.

Capítulo 5

COMPETENCIA ACÚSTICA Y
SELECCIÓN DE PAREJA EN
ALYTES OBSTETRICANS
Y ALYTES CISTERNASII

Basado en:

Bosch, J., y Márquez, R., 1996. Acoustic competition in male midwife toads *Alytes obstetricans* and *Alytes cisternasii*: response to neighbor size and calling rate. Implications for female choice. *Ethology*, 102: 841-855.

RESUMEN

*En este capítulo se comprueba si existe competencia acústica entre machos de *Alytes*. Para ello se ha analizado el comportamiento de los machos cantores ante la emisión de estímulos en experimentos de playback. La respuesta de los machos residentes se ha analizado considerando dos parámetros temporales (duración y tasa de emisión) y uno espectral (frecuencia) de sus llamadas. Los estímulos empleados en los experimentos de playback incluyen dos niveles de frecuencia y dos niveles de tasa de emisión. En ambas especies, los machos residentes en presencia de un competidor sólo incrementan su tasa de emisión de llamadas, sin alterar su frecuencia ni su duración. El cambio en la tasa de emisión observado es diferente para cada uno de los dos niveles de frecuencia y cada una de las dos tasas de emisión de los estímulos. El tamaño del macho residente no está correlacionado con la magnitud del cambio en la tasa de emisión de llamadas, mientras que la tasa de emisión inicial está correlacionada positivamente con su incremento. El valor máximo de incremento en la tasa de emisión aparece en *A. cisternasii*. En los experimentos de fonotaxis, las hembras prefieren llamadas con altas tasas de emisión confirmando la importancia del cambio en la tasa de emisión para la atracción de las hembras. Se demuestra la existencia de competencia acústica entre machos reflejada en un aumento de la tasa de emisión de llamadas.*

INTRODUCCIÓN

WILSON (1975) estableció que hay comunicación entre dos animales cuando un observador externo puede detectar cambios predecibles en el comportamiento de uno de ellos (el reactor) en respuesta a determinadas señales del otro animal (el actor). La comunicación acústica en anuros es un modelo excelente para estudiar diferentes hipótesis evolutivas y establecer nuevas teorías (p.e. LITTLEJOHN 1988; RYAN *et al.* 1990; GERHARDT 1994a). En el contexto de la selección sexual, la comunicación en anuros se ha estudiado en relación a la selección sexual por elección de pareja por parte de las hembras (p.e. SULLIVAN y LEEK 1987; RYAN 1990; GERHARDT 1991; WAGNER y SULLIVAN 1995), y por la competencia macho-macho (p.e. SCHWARTZ 1989; WAGNER 1989a; WELLS y TAIGEN 1989). En este último caso, la competencia macho-macho a través de la comunicación acústica, ha sido considerada como un comportamiento agonístico (que precede a un posible combate físico) (p.e. FELLERS 1979) o como una competencia en la inversión cuando la actividad fonadora implica un considerable consumo energético (SULLIVAN y WALSBERG 1985; WELLS y TAIGEN 1986; KLUMP y GERHARDT 1987; RYAN 1988b; TEJEDO 1992; SCHWARTZ *et al.* 1995) o un mayor riesgo de exposición al peligro (RYAN 1985).

Como hemos visto, el sistema de apareamiento de *A. obstetricans* y *A. cisternasii* se ha descrito con gran detalle (DE L'ISLE 1873, 1876; HÉRON-ROYER 1886; HEINZMANN 1970; CRESPO 1979; LÓPEZ-JURADO *et al.* 1979; RODRÍGUEZ-JIMÉNEZ 1984; MÁRQUEZ y VERRELL 1991), sin embargo, el combate o desplazamiento entre machos nunca se ha sido observado. Por otra parte, hay evidencias de que los predadores que se orientan acústicamente como los búhos, no incluyen entre sus presas estas especies de forma significativa. La ventaja en el apareamiento de los machos de mayor tamaño se ha descrito para ambas especies (RAXWORTHY 1990; MÁRQUEZ 1993), y ha sido parcialmente explicada por las preferencias de las hembras hacia las llamadas de baja frecuencia, que son emitidas por machos más grandes (MÁRQUEZ 1995a, 1995b). Como vimos en el capítulo 3, las llamadas

de apareamiento de los machos de *Alytes* son notas tonales cortas con estructura temporal y espectral sencillas (la única frecuencia enfatizada es la frecuencia fundamental o dominante) (SCHNEIDER 1966; HEINZMANN 1970; CRESPO *et al.* 1989; MÁRQUEZ y VERRELL 1991; BUSH 1993; capítulo 3). Mientras que la frecuencia dominante y la duración de la llamada parecen ser constantes en los individuos (aunque la duración varíe con la temperatura), la tasa de emisión de las llamadas es mucho más variable (siempre para la misma temperatura). Esto sugiere que la duración de la llamada y la frecuencia dominante son propiedades acústicas estáticas, mientras que la tasa de emisión es una propiedad acústica dinámica (según GERHARDT 1991). En un número considerable de especies de anuros (p.e. RYAN 1988a; GERHARDT 1994a), el tamaño de los machos se haya correlacionado significativamente con la frecuencia dominante de las llamadas, mientras que la duración de la llamada está correlacionada significativamente con la temperatura corporal. Esto también ocurre en *Alytes* (MÁRQUEZ 1995a, 1995b; MÁRQUEZ y BOSCH 1995, capítulo 3).

A pesar de toda la información disponible sobre el comportamiento y la bioacústica de los sapos parteros, la mayoría de los estudios se han limitado a describir las llamadas de los machos o las preferencias de las hembras en experimentos de fonotaxis. Sin embargo, hasta el momento no se han estudiado las interacciones acústicas macho-macho. Un estudio de tales interacciones es necesario para determinar el papel de la competencia macho-macho en los sistemas de apareamiento de *Alytes*.

*Los principales objetivos de este capítulo han sido determinar si existe competencia acústica macho-macho en *Alytes*, y describir el mecanismo de dicha competencia. Para realizar este objetivo se han planteado tres cuestiones: 1) si la presencia de un macho intruso cercano llamando altera las características y el comportamiento fonador de un macho llamando; 2) si estas alteraciones están en función de la frecuencia dominante absoluta o relativa (p.e. sobre el tamaño corporal) y la tasa de emisión del intruso; y 3) si las alteraciones observadas afectan a las preferencias de las hembras sobre los machos.*

MATERIAL Y MÉTODOS

Se han estudiado una población de *A. obstetricans* en la laguna Grande de Peñalara (Sierra de Guadarrama, Madrid) y una población de *A. cisternasii* del oeste de España (Mérida, Extremadura) durante las

estaciones de apareamiento del período comprendido entre 1993 y 1995.

Para construir llamadas sintéticas se obtuvo una muestra de llamadas naturales de las poblaciones de estudio. Se analizó una muestra de 3 a 23 llamadas por cada macho. Las grabaciones y su posterior análisis se realizaron como se indica en el capítulo 2.

Las llamadas sintéticas utilizadas para todos los experimentos se construyeron como se describe en el capítulo 2. La duración de las llamadas sintéticas para cada población se ajustó a la duración media, que se corresponde con la temperatura media registrada durante la estación reproductora. Las frecuencias dominantes y las tasas de emisión de llamadas utilizadas en los experimentos de playback, correspondían a la media de la población ± 1.5 DE (los valores siempre se encontraban dentro del rango de la población) (las medias poblacionales reflejan la media de los valores medios para cada individuo; ver capítulo 3). Los valores de frecuencia no se corrigieron por el tamaño del animal, por lo que reflejan parcialmente la distribución de tamaños de los individuos las poblaciones, dado que el tamaño y la frecuencia están correlacionadas en ambas especies (HEINZMANN 1970; capítulo 3).

EXPERIMENTOS DE PLAYBACK CON MACHOS

Se realizaron experimentos de playback con machos de *A. obstetricans* de Peñalara y de *A. cisternasii* de Mérida. En cada experimento, se localizó a machos que cantasen de forma aislada en condiciones naturales. Se consideró que un macho cantaba de forma aislada cuando ningún otro macho estaba cantando a menos de 5 m de distancia. Después de registrar una muestra de al menos 10 llamadas del macho aislado, se emitía una serie de llamadas sintéticas con un reproductor de cassettes Sony TCM-84V situado aproximadamente a 1 m de dicho macho. El nivel de presión de sonido (SPL) del estímulo en la posición del macho estudiado era aproximadamente de 70 dB (correspondiente al SPL de un macho llamando a una distancia de 1 m aproximadamente). Las llamadas sintéticas y la respuesta del macho se registraban de la forma habitual. Tras un período de descanso, de al menos dos minutos, se realizaba un segundo registro estimulando al macho con otra serie de llamadas sintéticas que se presentaban bajo condiciones idénticas de presión de sonido y distancia. Este proceso se repetía cuatro veces, una con cada serie de las cuatro utilizadas, variando aleatoriamente el orden de emisión de las series. Las cuatro series de estímulos sintéticos presentados consistían en una secuencia de 15 llamadas idénticas, regularmente espaciadas. Sólo se analizó la respuesta del macho a las 10 últimas llamadas, siendo ignoradas las 5 primeras en los

análisis considerándolas de transición (para dar tiempo al macho para que se percatase y reaccionase ante la presencia del intruso). Las series eran combinaciones de dos tipos diferentes de frecuencias dominantes: agudas (A) y graves (G), y dos tasas de emisión distintas: lenta (L) y rápida (R). Para *A. obstetricans* las llamadas sintéticas utilizadas fueron: AL (100 ms, 1300 Hz, 15.4 llamadas/minuto), AR (100 ms, 1300 Hz, 54.5 llamadas/minuto), GL (100 ms, 1000 Hz, 15.4 llamadas/minuto) y GR (100 ms, 1000 Hz, 54.5 llamadas/minuto). Para *A. cisternasi*, las llamadas utilizadas fueron: AL (170 ms, 1618 Hz, 11.4 llamadas/minuto), AR (170 ms, 1618 Hz, 42.3 llamadas/minuto), GL (170 ms, 1364 Hz, 11.4 llamadas/minuto) y GR (170 ms, 1364 Hz, 42.3 llamadas/minuto).

Se analizaron tres parámetros de las llamadas de los machos estudiados antes y durante los experimentos de playback: duración de la llamada, frecuencia dominante y tasa de emisión de la llamada. Los resultados se analizaron mediante un ANOVA para medidas repetidas con comparaciones planificadas usando la aplicación Statistica 4.1. Para normalizar las variables se transformaron mediante la fórmula $\log(x+1)$. Ya que todas las comparaciones implicaban medidas repetidas (el mismo macho antes y durante la estimulación acústica), no fueron necesarias las correcciones de la duración de la llamada por la temperatura, ni la de la frecuencia dominante por el tamaño del animal.

EXPERIMENTOS DE FONOTAXIS CON HEMBRAS GRÁVIDAS

Se utilizaron hembras grávidas (con huevos maduros visibles a través de la piel del abdomen) que se capturaron al comienzo del período reproductor en sus poblaciones naturales. Las llamadas sintéticas se emitían alternativamente, mediante dos altavoces situados en lados opuestos de un recinto cerrado (1.8 x 1.8 m) bajo una luz roja. El volumen de las llamadas sintéticas se ajustó en el centro del recinto a 70 dB con un sonómetro Realistic Sound Pressure Meter. La secuencia seguida para someter a las hembras al experimento fue aleatoria. Se situaba a cada hembra en el centro del recinto con el eje del cuerpo en ángulo recto con respecto al eje entre de los altavoces, y era retenida en un recipiente permeable al sonido al menos un minuto; después se retiraba el recipiente y la hembra se aproximaba al estímulo. Si tocaba la pared del recinto en la base del altavoz o a 10 cm de éste, se consideraba que había elegido dicho estímulo. Si tocaba cualquier otro punto de la pared del recinto o permanecía más de dos minutos sin moverse, el intento se consideraba nulo. Los estímulos empleados eran secuencias de llamadas con la duración y frecuencia medias para cada población, y únicamente diferían en la tasa de

emisión de la llamada. Para *A. obstetricans*, se utilizaron llamadas a baja tasa de emisión (24.5 llamadas/minuto), y a alta tasa (48.9 llamadas/minuto). Para *A. cisternasii*, la tasa baja de emisión era de 28.8 llamadas/minuto, y la alta de 57.7 llamadas/minuto. Estos valores son los más cercanos posibles a la media de la tasa de emisión de cada población ± 1.5 DE, ya que los intervalos entre llamadas se corrigieron de forma que el mayor era un múltiplo entero del más corto, para así evitar el solapamiento entre los estímulos emitidos desde los dos altavoces. En todos los casos la tasa de repetición de las llamadas utilizada en los estímulos sintéticos estaba dentro del rango encontrado en la población natural. Las llamadas se emitían directamente desde un ordenador portátil, y eran amplificadas mediante un reproductor de cassettes estéreo (ver capítulo 2).

Se aplicó un test binomial para comprobar si el número de hembras atraídas por cada altavoz era significativamente diferente.

RESULTADOS

EXPERIMENTOS DE PLAYBACK

En la figura 5.1 (pág. 69) se muestran los valores medios y el error estándar para la duración de llamada, la frecuencia dominante y el intervalo entre llamadas antes y después de los cuatro experimentos realizados (*A. obstetricans* n=17, *A. cisternasii* n=16). Para estudiar el efecto de la presencia de un competidor sobre el comportamiento fonador de los machos residentes se realizaron ANOVAs con dos efectos (tabla 5.1, pág. 66). El efecto "especie" analiza las diferencias en las tres variables del canto estudiadas entre ambas especies, mientras que el efecto "competidor" analiza el efecto de la presencia de un competidor potencial representado por los cuatro tratamientos realizados con llamadas sintéticas. Los datos indican que ni la duración de la llamada ni la frecuencia dominante de la llamada de los machos residentes se modificaron durante los experimentos de playback. Sin embargo, los machos de ambas especies emitían llamadas a una tasa significativamente más rápida cuando eran sometidos a los experimentos de playback. Las diferencias altamente significativas encontradas para el efecto "especie" sobre la duración y la frecuencia dominante de los machos estudiados no tiene aquí ninguna trascendencia, ya que sólo aluden a las diferencias conocidas de duración y frecuencia de las llamadas de ambas especies. Por lo tanto, el efecto "especie" sólo se ha incluido aquí para estudiar su posible interacción con los otros efectos.

El efecto de la frecuencia dominante y de la tasa de emisión de las llamadas de los competidores sobre el intervalo entre llamadas del macho residente se estudió utilizando ANOVAs de tres efectos: "especie", "frecuencia" y "tasa de emisión". El efecto de la "frecuencia" sobre la tasa de emisión de las llamadas se analizó a través de los dos niveles de frecuencias dominantes utilizadas en los playback (A y G). El efecto de la "tasa de emisión de llamadas" se analizó a través de los dos niveles de tasa de emisión de los estímulos (L y R) (tabla 5.2, pág. 67). Solamente los efectos "especie" y "tasa de emisión" dieron diferencias significativas en la duración de la llamada de los machos analizados. La frecuencia dominante de los machos analizados sólo resultó significativamente diferente para el efecto "especie". El resultado más interesante aparece cuando se considera el cambio en la tasa de emisión de los machos analizados. En este caso los efectos de la frecuencia y de la tasa de emisión del estímulo son altamente significativos. Esto indica que los machos de ambas especies incrementan en mayor medida su tasa de emisión de llamadas cuando son sometidos a un estímulo de llamadas de frecuencia baja que cuando se someten a llamadas de alta frecuencia. De forma similar, los machos de ambas especies aumentan más su tasa de emisión cuando están bajo el estímulo de llamadas con una alta tasa de emisión que cuando se someten a llamadas con una tasa baja de emisión. En este test, el efecto "especie" no fue significativo lo que indica que la tasa de emisión de llamadas no es significativamente diferente entre ambas especies (fig. 5.2, pág. 70).

El aumento relativo en tasa de emisión experimentado (expresado como el porcentaje de cambio en el intervalo entre llamadas) por los machos residentes fue extremadamente variable entre éstos. Aunque, en algunos individuos los cambios en la tasa fueron negativos (es decir, redujeron su tasa de emisión durante los playback), el cambio medio varió desde el 16% al 28% en *A. obstetricans* y desde el 15% al 43% en *A. cisternasii* (tabla 5.3, pág. 68). Las tasas de emisión así como las frecuencias de los estímulos presentados eran fijas, mientras que la tasa de emisión original y la frecuencia de las llamadas de los machos estudiados eran distintas. La tabla 5.4 (pág. 68) muestra los resultados de las correlaciones entre la frecuencia dominante de los machos residentes y el incremento en su tasa de emisión en los playback. En todos los casos, las correlaciones no fueron significativas sugiriendo que la magnitud de la respuesta en la emisión de llamadas no depende del tamaño absoluto del macho residente.

Sin embargo, en ambas especies y en los cuatro experimentos realizados, el intervalo entre llamadas antes del playback se correlacionaba negativamente con el cambio experimentado en el intervalo entre llamadas (fig. 5.3, pág. 71; tabla 5.5, pág. 68). Es decir, los machos estudiados respondían con un incremento más alto en la

tasa de emisión cuando originalmente estaban llamando a una tasa de emisión baja. Un análisis de covarianza (ANCOVA) muestra que esta respuesta es similar en ambas especies en los cuatro playback realizados (tabla 5.5, pág. 68).

EXPERIMENTOS DE FONOTAXIS

Se estudió un total de 26 hembras grávidas de *A. obstetricans* y 23 hembras grávidas de *A. cisternasii*. Las temperaturas durante los experimentos fueron cercanas a las temperaturas en condiciones naturales (*A. obstetricans* 11.6°C, *A. cisternasii* 22.3°C). Las hembras de ambas especies fueron significativamente más atraídas hacia el altavoz que emitía llamadas sintéticas a una tasa de emisión mayor (*A. obstetricans*: 16 respuestas, 15 tasa rápida, 1 tasa lenta, $p=0.0002$; *A. cisternasii*: 15 respuestas, 15 tasa rápida, 0 tasa lenta, $p=0.0000$).

DISCUSIÓN

Los resultados de los experimentos de playback indican que únicamente los dos caracteres "estáticos" de las llamadas, frecuencia dominante y duración, no parecen estar afectados dinámicamente por la competencia acústica macho-macho. En unas pocas especies de anuros, se ha señalado un cambio en la frecuencia dominante por la competencia entre machos (LOPEZ *et al.* 1988; WAGNER 1989a, 1989b; GRAFE 1995). Éste no es el caso de *Alytes*, donde se ha demostrado que las hembras se aparean preferentemente con machos grandes, ya que son más atraídas por las llamadas de frecuencia más baja que éstos emiten (HEINZMANN 1970, MÁRQUEZ 1995a, 1995b). Por ello, en *Alytes* la frecuencia dominante se puede considerar como un indicador adecuado del tamaño de los machos (a pesar de lo cual este indicador puede ser adecuado pero no muy fiable debido a que el coeficiente de regresión entre el tamaño del macho y la frecuencia no es demasiado alto, capítulo 3). La duración de la llamada sólo variaba ligeramente durante los playback; las diferencias (significativas) encontradas en la duración de la llamada por el efecto "tasa de emisión" se debe a un cambio mínimo en la duración de la llamada (menos de 2 ms) en respuesta a los estímulos con distintas tasas de emisión. Este resultado representa menos del 3% de cambio en la duración de la llamada en cada especie y se puede explicar como una relación negativa intrínseca entre la duración de la llamada y el intervalo entre llamadas, relacionado con un aumento de la temperatura de los individuos que llaman más rápidamente (HEINZMANN 1970). En otras especies de anuros se ha encontrado un resultado semejante de cambio en la duración de las llamadas con el incremento de intensidad de

llamada (SCHWARTZ y WELLS 1984a; WAGNER 1989a). El hecho de que la magnitud del cambio en la duración de la llamada sea extremadamente limitado es coherente con el ajuste de la duración de llamada en *Alytes* en función de la temperatura (HEINZMANN 1970; MÁRQUEZ 1995a; capítulo 3) y en *Bombina*, otro género de anuros con características bioacústicas similares (ZWEIFEL 1959; LÖRCHER 1969; SCHNEIDER *et al.* 1986). Finalmente, la tasa de emisión de la llamada, un carácter claramente "dinámico", parece modificarse en presencia de un competidor simulado. En estudios realizados con otras especies, donde este carácter está relacionado estrechamente con el coste energético de la producción de la llamada, se han obtenido resultados semejantes (p.e. WELLS 1988), por lo que la tasa de emisión puede ser considerada como un indicador de la inversión reproductora (energética) del macho. De forma similar, la emisión de llamadas a una tasa más rápida puede aumentar el riesgo de ser localizado por cualquier predador capaz de orientarse acústicamente, aunque en *Alytes* es improbable que esta presión selectiva llegue a ser de importancia dado que los sapos parteros no parecen ser presa habitual de ningún ave nocturna (MARTÍN y LÓPEZ 1990; REY *et al.* 1994).

Los machos responden con un incremento más fuerte en la tasa de emisión en respuesta a las llamadas sintéticas de baja frecuencia, que a las de alta frecuencia. Este resultado es muy interesante, porque demuestra que no sólo las hembras receptivas responden de forma distinta a las llamadas de diferentes frecuencias (MÁRQUEZ 1995a, 1995b), sino que también los machos responden de forma diferente según la frecuencia dominante de las llamadas de los competidores. Esto se puede interpretar como que los machos utilizan la frecuencia de la llamada del competidor a modo de indicador de su habilidad en la competencia o de su capacidad de atracción de las hembras, y responden con un incremento gradual en la tasa de emisión. Alternativamente, este hecho podría tener una explicación mecanicista debido a la posibilidad de que las llamadas de frecuencia más bajas pueden ser percibidas como sonidos más intensos por el aparato auditivo de los machos, y que las diferencia en la respuesta a los estímulos con dos frecuencias distintas sería la misma que a estímulos con intensidades distintas (machos de tamaño similar a distancias diferentes). Las dos especies de *Alytes* son, junto a *Acris crepitans blanchardi* (WAGNER 1989b), algunos de los raros casos donde se ha encontrado que los machos responden de forma diferente a llamadas de competidores de diferente frecuencia. Por otra parte, la frecuencia puede considerarse hasta ahora como un criterio estático (según GERHARDT 1991) en todas las especies analizadas de *Alytes*. Respecto al efecto del tamaño de los machos analizados, nuestros resultados son semejantes a los encontrados para *A. c. blanchardi* (WAGNER 1989a), donde tampoco se observó variación en la respuesta en función del tamaño absoluto o relativo de los machos analizados. Sin embargo, nuestros resultados difieren de los

de GREEN (1990), que encontró que los machos grandes de *Physalaemus pustulosus* aumentaban la complejidad de sus llamadas en un grado mayor que los machos más pequeños cuando se les sometía a un estímulo que representaba un macho intruso.

Los machos responden con un incremento mayor en su tasa de emisión a las llamadas sintéticas con alta tasa de emisión que a las de tasa baja. Este aumento en la tasa de emisión ha sido registrado en muchas especies de anuros (p.e. WAGNER 1989a). Por lo general, el incremento máximo en la tasa de emisión observado ha sido del 43% en *A. cisternasii* y del 28% en *A. obstetricans*. Estos valores están dentro del rango observado en otras especies de anuros.

Una diferencia básica entre la percepción de un competidor que llama a una tasa de emisión alta, y un competidor de mayor tamaño, es que únicamente la respuesta al primero es gradual y está correlacionada con la tasa de emisión del macho residente. Por esto, un macho que está llamando a una tasa de emisión baja, cuando se expone a un estímulo con una tasa de emisión mucho mayor que la suya propia, incrementará su tasa de emisión en mayor medida que un macho llamando a una tasa elevada antes del estímulo. En el caso de la frecuencia dominante, la frecuencia de la llamada del macho no está correlacionada con el cambio en la tasa de emisión, lo que indica que los machos mayores (que emiten llamadas con frecuencias dominantes más bajas) no aumentan más sus tasas de emisión que los machos pequeños. Estos resultados pueden interpretarse de dos formas que no son mutuamente excluyentes. Una primera interpretación, sugeriría que el macho residente cambia su tasa de emisión a un máximo en presencia de un competidor que tenga una frecuencia dominante más baja. Al contrario, la respuesta puede ser gradual en presencia de competidores llamando a diferentes tasas de emisión, así, el macho residente incrementará su tasa de emisión sólo lo imprescindible para neutralizar la diferencia de "atracción" del competidor. Esta hipótesis es coherente con el hecho de que el efecto "frecuencia" parece ser más significativo que el de la "tasa de emisión" (tabla 5.2, pág. 67) (esta comparación sólo es válida porque tanto la tasa de emisión como la frecuencia del estímulo se tomaron en una magnitud relativa similar respecto al valor medio poblacional: ± 1.5 DE). Una segunda interpretación, más mecanicista, puede explicar la respuesta gradual al estímulo con tasas de emisión más altas, relacionándolas con procesos de retro-alimentación o *feedback* en las interacciones acústicas de los machos. El ajuste de las respuestas a los estímulos ha sido estudiado en gran número de especies de anuros (p.e. WELLS y SCHWARTZ 1984; SCHWARTZ 1987) y será desarrollado en los capítulos 6 y 7.

La relevancia del efecto de la tasa de emisión de las llamadas de los machos en la elección de las hembras

es obvia porque los resultados de los experimentos de fonotaxis son altamente significativos. El mayor atractivo de las llamadas emitidas a altas tasas es un hecho común en anuros, y la mayor estimulación acústica que implica es evidente (WELLS 1988; GERHARDT 1994).

Los resultados sugieren que existe competencia acústica entre machos en las dos especies estudiadas. Este tipo de competencia parece ser distinta de la descrita para otros anuros, en los que las interacciones acústicas entre machos están relacionadas con la defensa de un territorio o como una gradación hacia interacciones agresivas físicas. Los machos de *Hyla versicolor* defienden un territorio a través de la emisión de llamadas agresivas o mediante la lucha física (FELLERS 1979). Los machos de *Philautus leucorhinus* aumentan su tasa de emisión y la complejidad de sus llamadas, y esto ha sido interpretado como un mecanismo para disuadir a los machos competidores del combate físico (ARAK 1983a). Sin embargo, en todas las especies de *Alytes*, los machos se encuentran con frecuencia llamando muy próximos unos de otros (bajo la misma piedra o en el mismo refugio) y nunca se han observado combates físicos entre machos.

Los cambios en la complejidad de la llamada no han aparecido en la evolución de *Alytes* y la competencia acústica podría deberse a un mero aumento del atractivo para las hembras a través de una inversión energética mayor, o bien ser una respuesta mecanicista a las interacciones entre los machos. En los próximos capítulos, se analizarán estas dos explicaciones mediante el estudio de las interacciones e interferencias acústicas entre machos y las implicaciones de estos factores en las preferencias de las hembras.

Tabla 5.1

Efecto	Duración		CM	F	p
	SC	GL			
Especie	2.2875	1	2.2875	63.60	0.000
Error	1.0431	29	0.0360		
Competidor	0.0000	1	0.0000	0.00	0.973
Error	0.0082	29	0.0003		
Especie x competidor	0.0004	1	0.0004	1.38	0.250
Error	0.0082	29	0.0003		

Efecto	Frecuencia dominante		CM	F	p
	SC	GL			
Especie	0.2713	1	0.2713	111.21	0.000
Error	0.0707	29	0.0024		
Competidor	0.0000	1	0.0000	0.11	0.744
Error	0.0005	29	0.0000		
Especie x competidor	0.0001	1	0.0001	3.07	0.090
Error	0.0005	29	0.0000		

Efecto	Intervalo entre llamadas		CM	F	p
	SC	GL			
Especie	0.1278	1	0.1278	0.89	0.353
Error	4.1564	29	0.1433		
Competidor	0.6258	1	0.6258	25.75	0.000
Error	0.7049	29	0.0243		
Especie x competidor	0.0002	1	0.0002	0.01	0.920
Error	0.7049	29	0.0243		

Resultados de los ANOVAs mostrando el efecto "especie" y el efecto "competidor" en cada una de las tres características estudiadas de la llamada.

Tabla 5.2

Efecto	Duración		GL error	CM error	F	p
	GL efecto	CM efecto				
Especie	1	1.81	29	0.03	61.71	0.000
Frecuencia	1	0.00	29	0.00	0.49	0.489
Tasa de emisión	1	0.00	29	0.00	6.68	0.015
Especie x frecuencia	1	0.00	29	0.00	1.98	0.170
Especie x tasa de emisión	1	0.00	29	0.00	1.81	0.189
Frecuencia x tasa de emisión	1	0.00	29	0.00	2.92	0.098
Especie x frecuencia x tasa de emisión	1	0.00	29	0.00	6.59	0.016

Efecto	Frecuencia dominante		GL error	CM error	F	p
	GL efecto	CM efecto				
Especie	1	0.21	29	0.00	109.05	0.000
Frecuencia	1	0.00	29	0.00	0.34	0.564
Tasa de emisión	1	0.00	29	0.00	0.68	0.417
Especie x frecuencia	1	0.00	29	0.00	0.22	0.644
Especie x tasa de emisión	1	0.00	29	0.00	0.28	0.604
Frecuencia x tasa de emisión	1	0.00	29	0.00	0.95	0.337
Especie x frecuencia x tasa de emisión	1	0.00	29	0.00	0.14	0.714

Efecto	Intervalo entre llamadas		GL error	CM error	F	p
	GL efecto	CM efecto				
Especie	1	0.11	29	0.11	0.96	0.335
Frecuencia	1	0.11	29	0.01	9.66	0.004
Tasa de emisión	1	0.10	29	0.02	5.99	0.021
Especie x frecuencia	1	0.02	29	0.01	1.80	0.191
Especie x tasa de emisión	1	0.03	29	0.02	1.73	0.198
Frecuencia x tasa de emisión	1	0.02	29	0.01	2.63	0.115
Especie x frecuencia x tasa de emisión	1	0.01	29	0.01	0.81	0.375

Resultados de los ANOVAs mostrando los efectos "especie", "frecuencia" y "tasa de emisión" en las tres variables estudiadas de la llamada.

Tabla 5.3

	AL	AR	GL	GR
<i>A. cisternasii</i>	-14.8 (24.8) (-56.2, 26.4)	-15.2 (59.8) (-65.2, 178.2)	-24.0 (27.7) (-63.7, 33.2)	-43.4 (21.3) (-68.0, 3.3)
<i>A. obstetricans</i>	-15.7 (38.6) (-70.7, 74.7)	-21.1 (33.3) (-74.7, 29.4)	-23.3 (30.0) (-71.5, 34.5)	-27.7 (33.3) (-83.1, 55.1)

Incremento en la tasa de emisión de la llamada en el macho residente relativo al control y expresado como el porcentaje de cambio del intervalo entre llamadas (un incremento de la tasa con signo negativo se asocia a una disminución en la duración del intervalo entre llamadas)

(AL: agudo-lento, AR: agudo-rápido, GL: grave-lento y GR: grave-rápido).

Tabla 5.4

	AL	AR	GL	GR
<i>A. cisternasii</i>	n=15 r=0.003 p=0.993	n=15 r=0.186 p=0.507	n=16 r=0.146 p=0.589	n=16 r=0.257 p=0.337
<i>A. obstetricans</i>	n=17 r=0.266 p=0.302	n=16 r=0.246 p=0.359	n=17 r=0.139 p=0.595	n=17 r=0.111 p=0.671

Correlaciones entre la frecuencia dominante del macho residente y el incremento de su tasa de emisión de sus llamadas durante la estimulación acústica

(AL: agudo-lento, AR: agudo-rápido, GL: grave-lento y GR: grave-rápido).

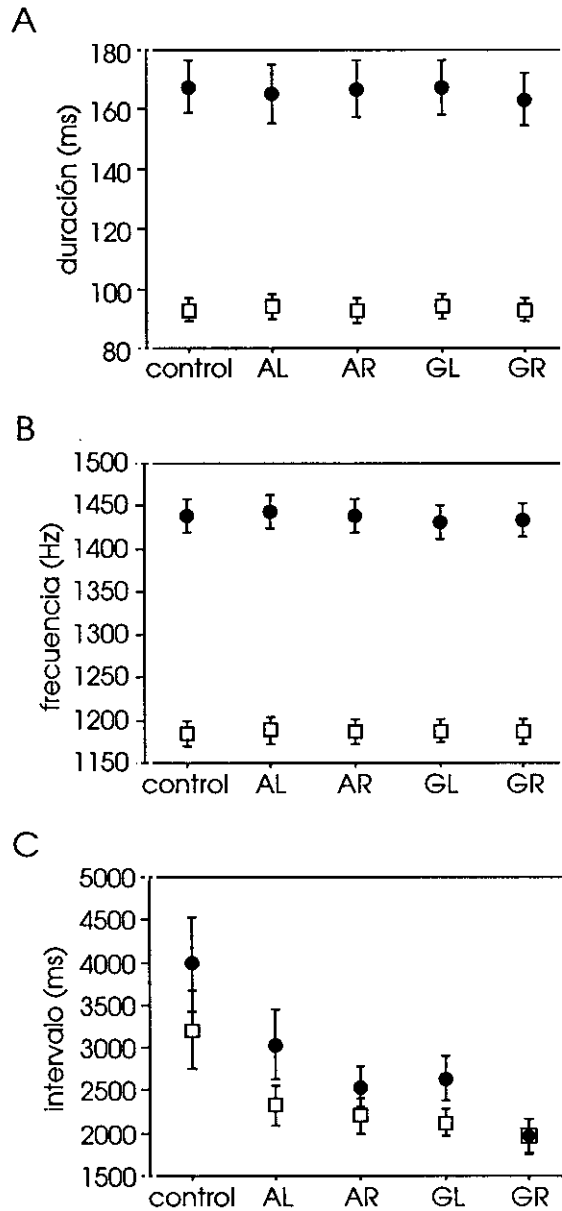
Tabla 5.5

	AL	AR	GL	GR
<i>A. cisternasii</i>	n=15 r=0.657 p=0.0078	n=15 r=0.904 p=0.0001	n=16 r=0.895 p=0.0001	n=16 r=0.943 p=0.0001
<i>A. obstetricans</i>	n=17 r=0.844 p=0.0001	n=16 r=0.892 p=0.0001	n=17 r=0.941 p=0.0001	n=17 r=0.891 p=0.0001
ANCOVA	GL=1 F=1.631 p=0.2117	GL=1 F=0.687 p=0.4143	GL=1 F=1.817 p=0.1877	GL=1 F=0.188 p=0.5828

Correlaciones entre el intervalo entre llamadas de cada macho antes del playback y su incremento durante el experimento. Análisis de la covarianza de esta relación entre ambas especies para los cuatro experimentos de playback

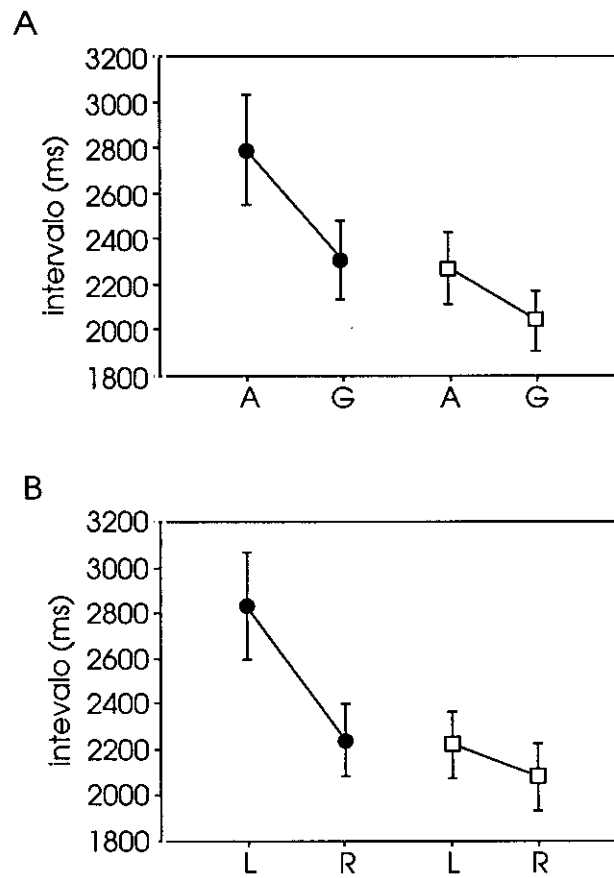
(AL: agudo-lento, AR: agudo-rápido, GL: grave-lento y GR: grave-rápido).

Figura 5.1



Media y error estándar de las tres variables del canto estudiadas, antes (Control) y durante los cuatro experimentos de playback (AL: agudo-lento, AR: agudo-rápido, GL: grave-lento y GR: grave-rápido) (círculos negros, *A. cisternasi*; cuadrados blancos, *A. obstetricans*)
A) duración de la llamada, B) frecuencia dominante, C) intervalo entre llamadas.

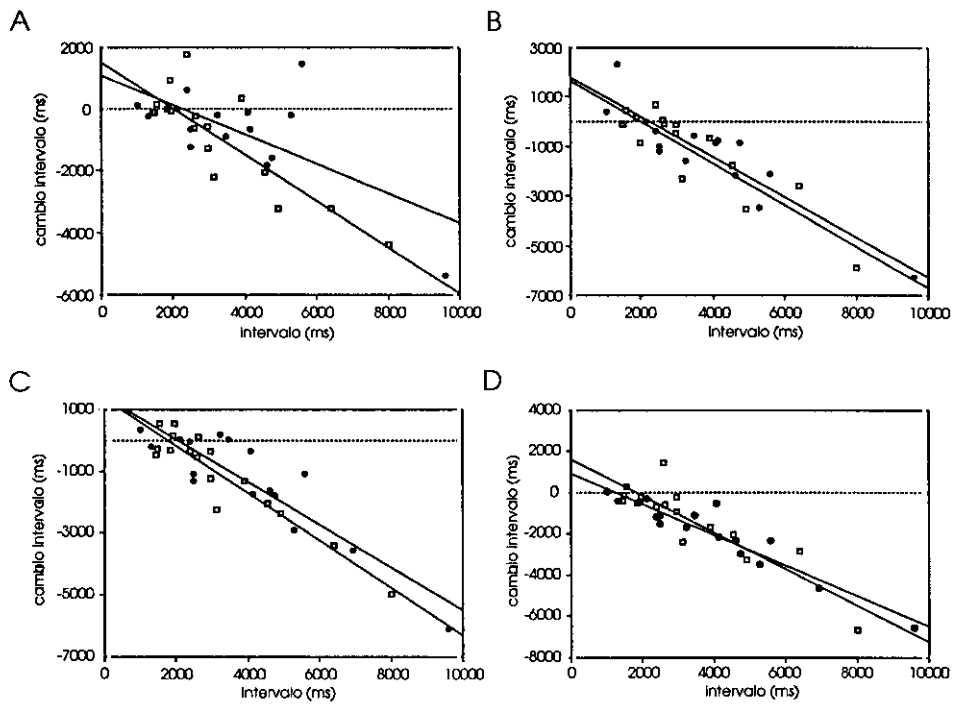
Figura 5.2



Efecto de la "frecuencia" y de la "tasa de emisión" del estímulo en el intervalo entre llamadas de los individuos analizados durante los experimentos de playback (media y error estándar) (círculos negros, *A. cisternasi*; cuadrados blancos, *A. obstetricans*).

A) Efecto "frecuencia". A, agudo; G, grave B) Efecto "tasa de emisión". L, lento; R, rápido.

Figura 5.3



Tasa de cambio del intervalo entre llamadas de cada macho antes y durante los cuatro experimentos de playback (círculos negros, *A. cisternasi*; cuadrados blancos, *A. obstetricans*)
A) Agudo-lento, B) Agudo-rápido, C) Grave-lento, D) Grave-rápido.

Capítulo 6

INTERACCIONES ACÚSTICAS
MACHO-MACHO Y SELECCIÓN DE
PAREJA EN *ALYTES OBSTETRICANS*
Y *A. CISTERNASII* (PARTE I).
AJUSTE TEMPORAL DE LAS LLAMADAS

RESUMEN

En este capítulo se plantea, si además de un incremento en la tasa de emisión de llamadas, la competencia acústica se manifiesta a través de ajustes temporales en la emisión de las llamadas de machos próximos. Los machos emiten sus llamadas inmediatamente después de la emisión de la llamada de otro macho cercano (ángulo fase aproximado: 80°). El ajuste conseguido por el macho varía en función de su temperatura corporal y de la tasa de emisión de llamadas del macho vecino, pero no en función del tamaño del macho o del tamaño del oponente (inferido por la frecuencia de las llamadas). El ajuste es mejor a mayor temperatura y a menor tasa de emisión de las llamadas. Los experimentos de fonotaxis con hembras indican que éstas pueden mostrar preferencias por ciertas disposiciones temporales de las llamadas de los machos (por ejemplo, el orden de emisión en los dios entre dos machos), pero estas preferencias podrían estar mediadas por su temperatura corporal. Por consiguiente, existen ajustes temporales en la emisión de las llamadas de los machos vecinos, aunque estos ajustes no parecen constituir un elemento de competencia acústica, pudiendo variar con las condiciones ambientales.

INTRODUCCIÓN

Los machos de los anuros se congregan frecuentemente formando coros más o menos numerosos. Aunque para algunas especies se ha demostrado que densos agrupamientos de machos cantores provocan un abandono de la actividad fonadora por parte de algunos machos para competir mediante luchas físicas (TEJEDO 1988), en general los machos de los anuros incrementan su esfuerzo a la hora de llamar cuando se encuentran agrupados en coros (WELLS 1977b, 1988).

Las vocalizaciones de los machos son emitidas a gran intensidad, y pueden llegar a representar el mayor gasto energético realizado en el contexto de la reproducción (p.e. TAIGEN *et al.* 1985). Además, en la mayoría de las especies constituye casi el único patrón utilizado por las hembras en los procesos de selección de los machos. Por todo esto, la habilidad de los machos para conseguir que sus vocalizaciones se transmitan en el espacio acústico de la manera más favorable representa un factor de gran importancia para los anuros.

En numerosas ocasiones, los coros de machos cantores pueden estar constituidos por más de una especie. Se ha observado, sobre todo en zonas tropicales, que los lugares empleados en la reproducción pueden estar ocupados por numerosas especies (ver p.e. DUELLMAN y TRUEB 1986), por lo que además de las interacciones acústicas habituales entre machos conespecíficos también se producen interacciones acústicas entre machos interespecíficos. Se han identificado tres formas principales de interacciones entre especies motivadas por las vocalizaciones de machos no conespecíficos: primero, dada la gran intensidad a la que se emiten las llamadas, el sonido de una especie puede enmascarar las de otras especies; segundo, machos cantores de diferentes especies pueden interactuar de forma agresiva produciendo

vocalizaciones especiales que motiven peleas interespecíficas; y tercero, se pueden producir apareamientos interespecíficos no deseados (GERHARDT y SCHWARTZ 1994).

Aunque existen formas simples de evitar las interferencias acústicas entre especies, como son la diferenciación de los lugares de reproducción (p.e. PENGILLEY 1971; HEYER 1976), de las estaciones reproductoras (p.e. SCHWARTZ y WELLS 1983a) o de los horarios en los períodos de actividad de canto (p.e. BOWKER y BOWKER 1979; DREWRY y RAND 1983), en muchas especies se han detectado mecanismos destinados a evitar interferencias que afectan a las propiedades mismas de las vocalizaciones. Por ejemplo, la utilización de diferentes frecuencias espectrales por machos de diferentes especies que comparten el mismo espacio y tiempo en su actividad fonadora, así como la sintonización del sistema auditivo de las hembras hacia las frecuencias de los machos conespecíficos, crea "canales privados" para la comunicación intraespecífica (GERHARDT 1994). En algunas especies de anuros se ha detectado fenómenos de desplazamiento de carácter reproductor en algunas características de las llamadas (p.e. LITTLEJOHN 1977; LITTLEJOHN y LOFTUS-HILLS 1968). Otro mecanismo destinado a evitar interferencias, son los ajustes temporales de las llamadas en una escala temporal fina. Así, muchos machos pueden realizar ajustes temporales de sus llamadas para evitar interferencias con las de otra especie, principalmente si las llamadas de ambas especies presentan una estructura semejante (p.e. SCHWARTZ y WELLS 1984a, 1984b, 1985).

Aunque las interacciones acústicas entre machos de diferentes especies pueden resultar importantes, lo son aún más las interacciones intraespecíficas.

En muchas especies de anuros se ha constatado la existencia de interacciones acústicas entre machos cantores. Sin embargo, el estudio de las interacciones acústicas no siempre resulta sencillo ya que, en muchas especies el repertorio acústico incluye otros tipos de llamadas además de las llamadas de apareamiento, como llamadas agresivas y territoriales cuyo objetivo es mantener la distribución espacial de los machos (p.e. SCHWARTZ y WELLS 1985; WAGNER 1989b).

Una interacción acústica se podría definir como un cambio en el comportamiento fonador de un macho motivado por las vocalizaciones de otro macho cercano. El ajuste temporal de las llamadas de los machos respecto a las llamadas del vecino es sin duda el mecanismo más sencillo para evitar las

interferencia acústicas.

Ya en 1949 GOIN señaló que los machos de *Hyla crucifer* cantan en ocasiones formando dúos o tríos, y posteriormente otros trabajos apuntaron la existencia de una organización social dentro de los coros de machos cantores (BOGERT 1960; DUELLMAN 1967; WILSON 1975).

Las diferencias en el aspecto temporal de las llamadas de los machos fue apuntada por FOSTER (1967) cuando constató que ciertos machos iniciaban el coro con más frecuencia que otros. SCHNEIDER (1967 y 1968) señaló que los machos de *Hyla meridionalis* e *Hyla arborea*, cuando cantan junto a otros machos, alternan sus llamadas en el tiempo para evitar los solapamientos.

Posteriormente WHITNEY y KREBS (1975a) demostraron que las hembras de hílidos tenían en cuenta los patrones temporales de las vocalizaciones, seleccionando los machos que iniciaban los coros con mas frecuencia. Sin embargo, GRAFE (1996) encuentra que las hembras de *Hyperolius marmoratus* no muestran ninguna preferencia por machos que canten en primer o en segundo lugar en las interacciones acústicas.

El estudio de las interacciones acústicas en anuros ha sido abordado de muchas formas posibles. El análisis del comportamiento fonador de varios individuos simultáneamente es sin duda de gran importancia para comprender la dinámica de las interacciones acústicas entre machos. Sin embargo, la inherente dificultad para el seguimiento de más de dos individuos a la vez, ha hecho que la inmensa mayoría de los estudios cuantitativos sobre interacciones acústicas se hayan limitado a las interacciones entre dos machos cantores, siendo excepcionales los trabajos en los que se aborda el estudio de más de dos machos simultáneamente (p.e. BRUSH y NARINS 1989; SCHWARTZ 1993).

Los dos métodos usados hasta la fecha para el estudio de las interacciones acústicas son, por un lado, el estudio de las interacciones naturales de machos cantores, y por otro, el uso de técnicas de playback en las que se somete a un individuo a una serie de estímulos que consisten en llamadas sintéticas o naturales.

WICKLER y SEIBT (1974) correlacionaron el retraso de la llamada de un individuo (A) con el correspondiente período de las llamadas del macho vecino (B). Si las llamadas del macho A provocan la emisión de las llamadas del macho B, entonces el intervalo entre llamadas del macho B se incrementará si

aumenta el intervalo entre las llamadas del macho A y B, ya que el macho B "espera" a que se produzca la llamada del macho A para emitir su llamada. De esta forma, analizando el grado de correlación entre BA y BB o AB y AA podemos analizar, no sólo si uno o ambos machos están realizando un ajuste temporal de sus llamadas con las del vecino, sino también conocer la magnitud de ese ajuste.

SCHNEIDER *et al.* (1988) demostraron la existencia de interacciones acústicas en 4 especies de anuros neotropicales comparando la distribución observada y esperada de las latencias (intervalo entre el inicio de una llamada y el inicio de la siguiente) de machos que cantaban junto a otros machos.

KLUMP y GERHARDT (1992) indicaron algunos aspectos claves para demostrar y cuantificar las interacciones acústicas entre machos.

El ajuste de las llamadas en las interacciones se puede caracterizar midiendo el ángulo fase de la llamada de un individuo con respecto a los períodos de las llamadas del vecino. Así, un ángulo fase de 180° significa que ambos individuos alternan sus llamadas en el tiempo a intervalos regulares idénticos, un ángulo de 0° indica que ambos machos cantan simultáneamente, y ángulos fase entre 0° y 180° (o entre 180° y 360°) indican que el canto de un individuo es seguido inmediatamente por el del vecino. El ángulo fase puede considerarse un carácter específico, dado su alto grado de estabilidad (p.e. para *Hyla arborea* el valor es 180°) (KLUMP y GERHARDT 1992).

Como hemos visto en el capítulo anterior, en *Alytes* se ha podido constatar la existencia de competencia acústica entre machos. Así, se ha demostrado que los machos de *Alytes* incrementan la tasa de repetición de sus llamadas en respuesta de las vocalizaciones de un competidor cercano. Hemos visto también en el capítulo 5, que la respuesta de los machos, aunque no presenta un carácter gradual, varía en función del tamaño del competidor. Además, las hembras de *Alytes* seleccionan machos que emiten sus llamadas a tasas elevadas.

*El objetivo principal de este capítulo es el de demostrar si existen interacciones acústicas entre machos en *A. obstetricans* y *A. cisternasii*. Además, se pretende cuantificar dichas interacciones, estudiando el ajuste temporal de las llamadas de los machos a corto y a largo plazo, y su dependencia de las características de los machos involucrados o de las condiciones ambientales. Todo esto se discute en el marco de la importancia de la competencia acústica entre machos en los procesos de*

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizaron grabaciones y experimentos de playback convencionales en el campo en dos poblaciones de *Alytes. A. obstetricans* se estudió en la laguna Grande de Peñalara, mientras que *A. cisternasii* se estudió en Mérida.

ANÁLISIS DE INTERACCIONES NATURALES

Para estudiar las interacciones naturales entre individuos se realizaron grabaciones en el campo de machos que se encontraban cantando muy próximos (menos de 5 metros). Las grabaciones fueron realizadas en cinta cassette y posteriormente fueron digitalizadas a 22 kHz y 8 bits con ayuda de software y hardware SoundTools para Macintosh. Utilizando la aplicación Signalyze para Macintosh, se cuantificó la duración de la llamada, su frecuencia espectral, así como el intervalo entre llamadas de cada macho y el retraso entre las llamadas de cada macho y las llamadas del vecino.

EXPERIMENTOS DE PLAYBACK

Para estudiar el ajuste temporal de las llamadas se realizaron dos tipos de experimentos de playback, unos a corto plazo y otros a largo plazo. En ambos experimentos se usaron llamadas sintéticas generadas por ordenador. Cuando se detectaba un macho cantando de forma aislada era registrado durante al menos 10 vocalizaciones (100 en los experimentos a largo plazo), y después se emitían una serie de estímulos mediante un cassette Sony TCM-84V situado aproximadamente a 1 m de distancia (presión de sonido aproximada a 1m, 70 dB).

EXPERIMENTOS A CORTO PLAZO. En los experimentos a corto plazo se utilizaron cuatro series de 15 llamadas sintéticas regularmente espaciadas, considerando las 5 primeras de adaptación y por consiguiente excluyéndolas de los análisis. El orden de las distintas series se varió de forma aleatoria y se esperó al menos dos minutos entre dos series. Las series variaban en dos tipos de frecuencia dominante: agudas (A) y graves (G), y dos tipos de tasa de emisión: lenta (L) y rápida (R). Para *A.*

obstetricans las llamadas sintéticas utilizadas fueron: AL (100 ms, 1300 Hz, 15.4 llamadas/minuto), AR (100 ms, 1300 Hz, 54.5 llamadas/minuto), GL (100 ms, 1000 Hz, 15.4 llamadas/minuto) y GR (100 ms, 1000 Hz, 54.5 llamadas/minuto). Para *A. cisternasi*, las llamadas sintéticas usadas fueron: AL (170 ms, 1618 Hz, 11.4 llamadas/minuto), AR (170 ms, 1618 Hz, 42.3 llamadas/minuto), GL (170 ms, 1364 Hz, 11.4 llamadas/minuto) y GR (170 ms, 1364 Hz, 42.3 llamadas/minuto).

EXPERIMENTOS A LARGO PLAZO. En los experimentos a largo plazo (sólo para *A. obstetricans*) se utilizaron cuatro series de 100 llamadas sintéticas, tres de ellas variaban en la frecuencia dominante: Agudo (100 ms, 1300 Hz, 24 llamadas/minuto), Medio (100 ms, 1150 Hz, 24 llamadas/minuto), Grave (100 ms, 1000 Hz, 24 llamadas/minuto), y la cuarta serie consistía en llamadas de frecuencia media dispuestas temporalmente al azar (dentro del rango observado para esa población): Azar (100 ms, 1300 Hz, 8-60 llamadas/minuto). A cada macho sólo se le presentó una de las tres series para evitar la posible adaptación al tratarse de un experimento de larga duración. Durante los playback se registraron los estímulos y las respuestas de los machos y posteriormente las grabaciones se analizaron como se ha comentado antes.

El ajuste de las respuestas frente al estímulo se analizó de la siguiente manera: el tiempo de respuesta (TR) sería el tiempo desde el inicio del estímulo al inicio de la respuesta; mientras que el tiempo de respuesta esperado (TE) correspondería a la mitad del tiempo entre el inicio de un estímulo y el inicio del siguiente. Si el macho analizado no estuviese coordinando sus llamadas con los estímulos, se esperaría una distribución continua de la relación TR/TE entre 0 y el valor del tiempo entre estímulos.

Si la respuesta al estímulo se produce de forma rápida y coordinada se esperaría que la relación TE/TR fuese menor a 1. Al tratarse de experimentos de playback estáticos (no interactivos) es posible que entre dos estímulos el macho analizado emita más de una respuesta. Si entre dos estímulos se producen 2 respuestas el TE sería el tiempo entre el inicio de un estímulo y el inicio del siguiente partido por 3 (y así sucesivamente) (fig. 6.1, pág. 93). En los experimentos a corto plazo los resultados fueron analizados mediante un ANOVA de medidas repetidas (para evitar el efecto de la variación en la temperatura de cada macho) y comparaciones planificadas. En los experimentos a largo plazo se realizaron tests de los signos para una muestra.

Para estudiar el posible efecto del tamaño o la temperatura corporal de los machos en el grado de ajuste conseguido en las interacciones, se realizó otro experimento más de playback (sólo para *A. cisternasii*). En este caso se utilizaron secuencias de estímulos que contenían 10 series de 5 estímulos cada una. El intervalo en cada serie era constante, variando entre series de 1247 a 5072 ms de forma regular. Para cada serie de estímulos y para cada macho, se calculó el ajuste medio y se correlacionaron con distintas variables corporales.

EXPERIMENTOS DE FONOTAXIS

En los experimentos de fonotaxis se utilizaron hembras grávidas y llamadas sintéticas emitidas directamente desde un ordenador portátil PowerBook 165c, en un recinto cuadrado de 1.8 metros de lado e iluminado con una luz roja. Para *A. cisternasii* se utilizaron hembras de la población de Mérida, mientras que para *A. obstetricans* se utilizaron hembras de Peñalara y Formigal. El volumen de las llamadas sintéticas se ajustó a 70 dB en el centro del recinto con un sonómetro Realistic Sound Pressure Meter. Cada hembra era colocada en el centro del recinto, tras cuyos dos lados opuestos se encontraban dos altavoces que emitían dos estímulos diferentes de forma alternativa. La hembra era retenida en el centro durante 30 segundos mediante un cilindro permeable al sonido para habituarse, y después disponía de dos minutos para elegir uno de los dos estímulos presentados. Se consideraba que la hembra elegía un estímulo si tocaba el altavoz tras la pared o tocaba la pared a menos de 10 cm de la base del altavoz.

Se realizaron dos experimentos de fonotaxis distintos. En el primero de ellos la hembra debía elegir entre dos interacciones de dos machos, la primera correspondía a dos machos (uno con una frecuencia correspondiente a un macho de tamaño grande y otro con frecuencia correspondiente a un macho de tamaño pequeño) que cantaban con un ángulo fase de 90° , y la segunda a dos machos con características espectrales similares que cantaban con un ángulo fase de 180° (*A. obstetricans*: 100 ms, 1000 y 1300 Hz, 24.5 llamadas/minuto; *A. cisternasii*: 170 ms, 1364 y 1618 Hz, 26.9 llamadas/minuto) (fig. 6.2a, pág 94). En el segundo experimento se utilizaron llamadas que correspondían a dos machos de tamaño mediano y la hembra debía elegir entre un macho que siempre iniciaba la interacción y un macho que siempre contestaba en segundo lugar (*A. obstetricans*: 100 ms, 1150 Hz, 24.5 llamadas/minuto; *A. cisternasii*: 170 ms, 1491 Hz, 26.9 llamadas/minuto) (fig. 6.2b, pág. 94). En *A. cisternasii* este último experimento se repitió una vez más bajando la temperatura de las hembras artificialmente.

En el primer experimento, las preferencias de cada hembra fueron estudiadas 4 veces, mientras que en el segundo sólo 2 veces. Se calculó la probabilidad de elección de cada hembra para el estímulo más elegido en general, según el número de aciertos e intentos válidos (p. e. si una hembra respondía 3 de las 4 veces, y en 2 de ellas elegía el estímulo más preferido, la probabilidad asignada de esa hembra era de 2/3). En cada experimento las probabilidades de elección de los estímulos se compararon a la probabilidad esperada por azar (0.5) mediante un test de los signos para una muestra.

RESULTADOS

ANÁLISIS DE INTERACCIONES NATURALES

Se han analizado 7 secuencias largas de interacciones acústicas naturales en *A. obstetricans* y 8 en *A. cisternasii* (18-60 interacciones).

Utilizando la metodología propuesta por SCHNEIDER *et al.* (1988) para comparar las latencias observadas y las esperadas por azar, se obtienen resultados altamente significativos en todos los casos analizados (tabla 6.1, pág. 88). Es decir, el patrón de distribución temporal de las llamadas de los dos machos implicados en una interacción no se debe al azar, sino que al menos un macho está colocando sus llamadas de forma ordenada haciéndolas coincidir en el tiempo con las del otro (fig. 6.3, pág. 95).

Analizando la relación AB-AA o BA-BB se obtienen resultados significativos en 3 de las 7 interacciones analizadas en *A. obstetricans* y en 3 de las 8 de *A. cisternasii* (tabla 6.2, pág. 89). El desvío de la pendiente de las rectas de regresión (b) sobre cero no es significativo en *A. obstetricans* (n=7, media=0.46, t=1.6, p=0.1681), pero sí en *A. cisternasii* (n=9, media=0.693, t=4.7, p=0.0016). El ajuste de las llamadas (inferido por el coeficiente de correlación r) no presenta valores muy elevados en la mayoría de los casos. Aunque con este método no se obtienen resultados concluyentes, al menos en *A. cisternasii* se observa un indicio de relación positiva entre AB y AA, esto es, la llamada del macho B está provocada por la emisión de la llamada del macho A (fig. 6.4, pág. 96). Además, observando la distribución total de los intervalos AB, se comprueba que en las interacciones naturales se producen constantes cambios en el orden de llamada de ambos machos, es decir, el macho A no siempre inicia la interacción sino que ambos

machos A y B, se van alternando en ser el primero en cantar (fig. 6.5, pág. 97).

De todas formas, si consideramos como macho A al individuo que en un mayor número de ocasiones inicia la interacción y como macho B al individuo que normalmente responde en segundo lugar, no se observan diferencias significativas ni en el tamaño de ambos (inferido a partir de la frecuencia dominante de la llamada) ni en su temperatura corporal (inferida a partir de la duración de la llamada) (test de Wilcoxon, *A. obstetricans*: duración $n=7$, $Z=-0.169$, $p=0.8658$, frecuencia dominante $n=7$, $Z=-0.169$, $p=0.8658$; *A. cisternasi*: duración $n=10$, $Z=-1.362$, $p=0.1731$, frecuencia dominante $n=10$, $Z=-0.889$, $p=0.3743$).

El ángulo fase obtenido para *A. obstetricans* ha sido de 83.0° ($n=7$, $DE=16.0$), y para *A. cisternasi* ha sido de 77.6° ($n=9$, $DE=13.6$), no existiendo diferencias significativas entre ellos ($U'=40$, $p=0.3683$).

Otra forma de corroborar el hecho de que los dos machos de una interacción están cantando de forma coordinada es estudiar el comportamiento de uno de ellos cuando el otro macho deja de cantar. La figura 6.6 (pág. 98) muestra el intervalo entre llamadas de 6 machos en tres interacciones distintas. En todas las interacciones se observa que el intervalo entre llamadas del macho B aumenta considerablemente cuando el macho A deja de llamar.

Aunque todas las interacciones comentadas hasta ahora se refieren sólo a dos machos, también se han observado interacciones de 3 o más machos cantores. Así, por ejemplo, en un trío de *A. obstetricans* se observó la siguiente relación: el individuo A respondía al individuo B principalmente (aunque a veces también contestaba a C) y en menor medida el individuo B respondía a C, por último y en mucha menor medida, el individuo C respondía al individuo A (BA-BB: $n=78$, $r=0.1$, $p=0.0001$; CA-CC: $n=88$, $r=0.6$, $p=0.0001$; CB-CC: $n=56$, $r=0.5$, $p=0.0001$; AC-AA: $n=90$, $r=0.3$, $p=0.0031$).

EXPERIMENTOS DE PLAYBACK

EXPERIMENTOS A CORTO PLAZO. Los resultados del análisis del ajuste de las llamadas de los machos a la de sus competidores a corto plazo aparecen en la tabla 6.3 (pág. 90). En el primer ANOVA se ha estudiado la relevancia del efecto especie (*A. obstetricans* frente a *A. cisternasi*) y el grado del ajuste de las respuestas (hipótesis nula $TR/TE=1$). Se observa que existen diferencias

significativas en el ajuste entre especies ($F=4.7$, $p=0.0385$), y el ajuste en general es mejor de lo que cabría esperar por azar ($F=27.3$, $p=0.0000$), aunque no en ambas especies ($F=2.8$, $p=0.0285$) (el ajuste es sólo mejor para *A. cisternasi*).

En un segundo análisis se ha estudiado el efecto de la especie, de la frecuencia dominante y de la tasa de emisión del competidor. Existe una marcada diferencia en el ajuste de los machos según la tasa de emisión del competidor ($F=73.4$, $p=0.0000$), pero no según el tamaño de éste ($F=2.1$, $p=0.1597$); además, las dos especies estudiadas responden de forma distinta a distintas tasas de emisión de los estímulos (fig. 6.7, pág. 98).

EXPERIMENTOS A LARGO PLAZO. El ajuste de las llamadas a largo plazo en *A. obstetricans* se ha estudiado con experimentos de playback con secuencias de 100 estímulos. Se han obtenido resultados significativos en todos los experimentos realizados (test de los signos para una muestra, estímulo Grave: $n=7$, $x=0.805$, $p=0.0156$; estímulo Medio: $n=7$, $x=0.742$, $p=0.0156$; estímulo Agudo: $n=6$, $x=0.691$, $p=0.0312$; estímulo de frecuencia media distribuido al azar: $n=9$, $x=0.849$, $p=0.0391$) (fig. 6.8, pág. 99).

Un test de Kruskal-Wallis no indica diferencias significativas en el ajuste según la frecuencia dominante del canto del competidor ($df=2$, $H=3.5$, $p=0.1775$), como también ocurría en los experimentos a corto plazo. Tampoco existen diferencias en el ajuste con los estímulos de frecuencia media según éstos se encuentren ordenados en el tiempo o distribuidos al azar (test de Mann-Whitney entre Azar y Medio: $U'=48$, $p=0.0807$).

En todos los casos estudiados en los experimentos de playback a largo plazo, se observa una disminución del intervalo entre llamadas cuando los machos eran sometidos al estímulo, tal y como sucedía en el capítulo anterior con los experimentos a corto plazo. Un test de Kolmogorov-Smirnov comparando la distribución de los intervalos de las llamadas de los animales cantando solos y con los estímulos, refleja diferencias significativas en casi todos los casos estudiados (tabla 6.4, pág. 91). Observando la distribución de los intervalos entre llamadas antes y durante los experimentos, se advierte que además de producirse un incremento en la tasa de repetición de las llamadas por parte de los machos, éstos tratan de ajustar su tasa de emisión a la del estímulo (fig. 6.9a, pág. 100). Además, los casos en los que no se encuentran diferencias

significativas en las distribuciones de los intervalos entre llamadas antes y durante los experimentos, corresponden a casos en los que el intervalo entre llamadas del macho analizado coincide en gran medida con el intervalo entre estímulos (fig. 6.9b, pág. 100).

Analizando los resultados obtenidos en los experimentos de playback con estímulos de intervalos decrecientes para *A. cisternasii*, se ha encontrado una relación significativa entre la temperatura cloacal de los machos y el ajuste conseguido ($n=16$, $r=0.6$, $p=0.0252$) (fig. 6.10a, pág. 101), así como entre el intervalo entre estímulos y el ajuste ($n=10$, $r=0.7158$, $p=0.0199$) (fig. 6.10b, pág. 101). El tamaño del macho, por el contrario, no aparece correlacionado con el ajuste ($n=16$, $r=0.1621$, $p=0.5485$). Es decir, los machos de *A. cisternasii* consiguen un mejor ajuste cuando su temperatura corporal es mayor, y cuando el intervalo entre estímulos es mayor.

EXPERIMENTOS DE FONOTAXIS

Los resultados obtenidos en los experimentos de fonotaxis aparecen en la tabla 6.5 (pág. 92). Las hembras de *A. obstetricans* prefirieron machos que emitían sus llamadas con un ángulo fase de 180° frente a machos que lo hacían a 90° . En el segundo experimento las hembras de *A. obstetricans* prefirieron machos que cantaban siempre en segundo lugar frente a machos que lo hacían en primer lugar (temperatura ambiente durante el experimento 10°C , temperatura media en la zona de reproducción durante la actividad reproductora 12°C), mientras que las hembras de *A. cisternasii* eligieron significativamente los machos que cantaban en primer lugar (temperatura ambiente durante el experimento 18°C , temperatura media en la zona de reproducción durante la actividad reproductora 17°C). Sin embargo, cuando la temperatura de las hembras de *A. cisternasii* se bajó artificialmente hasta 14°C , aunque no se obtuvieron resultados significativos, no sólo desaparecieron las preferencias de las hembras por los machos que cantaban en primer lugar, sino que las hembras eligieron sobre todo las llamadas que se producían en segundo lugar.

DISCUSIÓN

Aunque ya sabíamos que la presencia de un competidor produce en los machos cantores un

aumento en la tasa de emisión de sus llamadas (capítulo 5), parece claro que en las dos especies de *Alytes* estudiadas la disposición temporal de las llamadas de los machos que cantan muy próximos no se debe al azar, sino que existe además un ajuste temporal de sus llamadas en función de las de sus competidores.

Las interacciones acústicas entre machos no siempre han resultado sencillas de demostrar, y aún menos de cuantificar (KLUMP y GERHARDT 1992). Por los resultados obtenidos en las interacciones naturales, parece que el ajuste no resulta fácil de medir en *Alytes*, en comparación con otras especies que han sido estudiadas. Ésto podría deberse a la poca idoneidad del análisis de interacciones naturales no controladas, en las que de forma habitual, los machos interrumpen la alternancia correcta de sus llamadas emitiendo más llamadas. Los bajos valores de ajuste encontrados, también podrían explicarse en función del carácter primitivo de estas especies: el patrón de ajuste de las llamadas no está tan evolucionado como en otras especies estudiadas (fundamentalmente hílidos), lo que además justificaría la ausencia de pautas claras en el orden de los machos al cantar.

Por otro lado, las ligeras diferencias encontradas en el comportamiento de ambas especies estudiadas, podrían explicarse por el menor tamaño de la muestra en *A. obstetricans*.

Si expresamos el grado de ajuste obtenido en los experimentos de playback, de manera similar al ángulo fase estudiado en las interacciones naturales (entorno a 80°), se obtiene un valor medio de 150° . Esta aparente contradicción puede explicarse porque en el caso del ajuste analizado en los playback, éste descende mucho si el animal estudiado emite más de una señal entre dos estímulos, mientras que en las interacciones naturales este fenómeno no se considera, obteniéndose el ángulo fase de secuencias con alternancia perfecta entre llamadas. Este problema metodológico podría resolverse fácilmente con el uso de experimentos de playback interactivos, en lugar de experimentos de playback estáticos que no se ajustan a las condiciones concretas de cada sujeto analizado.

De los resultados obtenidos con los experimentos de playback parece claro que existe un ajuste temporal de las respuestas, aunque se observan diferencias significativas en el grado de ajuste encontrado entre especies. En el caso de *A. obstetricans*, el bajo ajuste encontrado, sobre todo en las series rápidas, parece indicar que, o bien no existe un buen ajuste, o bien los valores experimentales no se han considerado correctamente.

En cualquier caso parece claro que, como observó NARINS (1982), el ajuste de las llamadas varía en función del intervalo entre estímulos, o dicho de otra forma, que la tasa de emisión del competidor es fundamental a la hora de conseguir un buen ajuste entre llamadas. NARINS (1982) señaló que existe un tiempo mínimo en el cual el animal no puede emitir una nueva llamada (*Behavioral Refractory Period*, BRP), y que además este período sería específico para cada especie y no dependería de la temperatura sino de la eficacia de los circuitos neuronales. El período refractario relativo sería el tiempo entre el final del BRP, y el inicio de la respuesta. Sin embargo, la metodología propuesta por NARINS (1982) para la medición del BRP es algo confusa y poco práctica para la comparación interespecífica.

No obstante, según estos resultados, el tamaño del competidor (inferido por la frecuencia espectral de su llamada) no parece influir en el ajuste conseguido.

También parece claro, por lo menos en *A. obstetricans*, que los machos son capaces de mantener el ajuste de sus repuestas durante un período largo de tiempo. Sin embargo, por los resultados obtenidos en los experimentos sobre el ajuste a largo plazo, y aunque nuevamente no se observan diferencias significativas, podemos deducir que existe una progresión en el grado de ajuste. Al contrario de lo que ocurría al analizar la tasa de emisión de las llamadas, en donde los machos incrementan más su tasa de emisión si el competidor es de gran tamaño (ver capítulo 5), el ajuste es más preciso cuanto menor es el tamaño del competidor. Ésto podría explicarse si los machos emitiesen su llamada inmediatamente después de la llamada de otro individuo como elemento de comparación para las hembras, por lo que cuando el individuo que canta en primer lugar presenta un menor tamaño (y por tanto con una llamada más aguda) la situación es más favorable para el individuo que responde.

Además, el hecho de que el peor ajuste se produzca cuando los estímulos se encuentran desordenados al azar, podría indicar que el mecanismo de las interacciones acústicas no es un proceso que actúe de forma independiente en cada llamada, sino que existe un ritmo interno (*zeitgeber*) que los machos cantores sólo pueden modificar en parte. Sin embargo, ZELICK y NARINS (1985) encontraron que los machos de *Eleutherodactylus coqui* eran capaces de evitar los solapamientos de sus llamadas con estímulos espaciados al azar, y NARINS y ZELICK (1988) argumentan que el mecanismo encargado de disparar la respuesta se actualiza con cada estímulo, reduciendo su intensidad en los períodos de silencio entre estímulos.

En relación a las características propias de cada macho estudiado y no frente a las de su oponente, los machos de *Alytes* consiguen mejores ajustes temporales cuanto mayor es su temperatura corporal, lo que lógicamente puede atribuirse a una mayor aceleración de los procesos neuronales que desencadenan la respuesta. Sin embargo, el tamaño del macho no parece importante a la hora de conseguir un buen ajuste.

Los resultados obtenidos en los experimentos de fonotaxis sugieren que la disposición temporal de las llamadas de los machos de *Alytes* influye en las preferencias de las hembras, aunque la temperatura podría jugar un importante papel. El efecto de la temperatura sobre las preferencias de las hembras es un fenómeno demostrado en varias especies de anuros (CAPRANICA y MOFFAT 1983; STIEBER y NARINS 1990), observándose incluso en ocasiones cambios en la dirección de esas preferencias (GERHARDT y MUDRY 1980): Por tanto, aunque pueda admitirse que la disposición temporal de las llamadas tenga influencia en las preferencias de las hembras, las diferencias de comportamiento encontradas entre ambas especies pueden deberse únicamente a las características ambientales de las dos poblaciones.

Por todo esto, podemos concluir que existe un mecanismo de ajuste temporal entre las llamadas de los machos de *Alytes*, que hace que las interacciones acústicas no se deban al azar. Además, estos mecanismos de ajuste temporal de las llamadas de los machos y sus posibles repercusiones en las preferencias de las hembras, podrían responder a un modelo en el que la temperatura juega un importante papel.

Tabla 6.1.

A. obstetricans

Individuo	χ^2	GL	p
Ao14-6.2	305.2	29	0.0000
Ao21-6.3	66.8	29	0.0001
Ao30-5.4	73.2	29	0.0000
Ao30-3.6	272.9	29	0.0000
Ao31-5.1	114.2	29	0.0000
Ao31-5.2	150.8	29	0.0000
Ao9-6.1	284.8	29	0.0000

A. cisternasi

Individuo	χ^2	GL	p
Ac10-10.1	81.4	29	0.0000
Ac4-10.1	124.0	29	0.0000
Ac4-10.4	80.8	29	0.0000
Ac6-10.1	69.5	29	0.0000
Ac6-10.2	235.1	29	0.0000
Ac6-10.3	230.4	29	0.0000
Ac6-10.4	683.0	29	0.0000
Ac6-10.5	42.4	29	0.0465

Diferencias entre las latencias observadas de un individuo cantando en una interacción acústica junto a otro macho y las latencias esperadas por azar de ese mismo individuo si cantase de forma no coordinada.

Tabla 6.2.

<i>A. obstetricans</i>					
Grabación	n	ángulo fase	b	r	p
14-6.2	60	73.6	0.26	0.1	0.5190
21-6.3	18	99.7	1.89	0.5	0.0214
30-5.4	63	77.6	0.33	0.1	0.6825
30-5.6	37	55.2	-0.40	0.2	0.3800
31-5.1	13	99.5	1.09	0.9	0.0001
31-5.2	41	82.7	0.00	0.0	0.9935
9-6.1	60	92.5	0.05	0.0	0.8742

t=1.6 n.s.

<i>A. cisternasii</i>					
Grabación	n	ángulo fase	b	r	p
10-10.1	18	82.3	0.30	0.2	0.3450
4-10.1	59	63.5	1.08	0.4	0.0028
4-10.4	27	68.2	0.09	0.1	0.7580
6-10.1	45	75.5	0.50	0.3	0.0210
6-10.2	38	88.4	0.64	0.5	0.0031
6-10.3	22	97.5	1.27	0.4	0.5150
6-10.4	31	69.3	0.56	0.3	0.1452
6-10.5	22	59.6	1.37	0.3	0.1458
6-10.6	19	93.7	0.43	0.2	0.3418

t=4.7 *

*Relación AB-AA o BA-BB en 7 interacciones naturales de A. obstetricans y 9 de A. cisternasii, ángulo fase, pendiente de la recta de regresión y valor del coeficiente de correlación. El desvío de "b" sobre cero se ha testado mediante una t de Student (n.s. no significativo, * p<0.05).*

Tabla 6.8.

Efecto	GL efecto	CM efecto	GL error	CM error	F	p
Especie	1	0.2726	30	0.0582	4.7	0.0385
Ajuste	4	1.3599	120	0.0499	27.3	0.0000
Especie x ajuste	4	0.1403	120	0.0499	2.8	0.0285

Efecto	GL efecto	CM efecto	GL error	CM error	F	p
Especie	1	0.3407	30	0.0727	4.7	0.0385
Frecuencia	1	0.1512	30	0.0727	2.1	0.1597
Tasa de emisión	1	4.0597	30	0.0553	73.4	0.0000
Especie x frecuencia	1	0.0687	30	0.0727	0.9	0.3389
Especie x tasa de emisión	1	0.4030	30	0.0553	7.3	0.0113
Frecuencia x tasa de emisión	1	0.0974	30	0.0570	1.7	0.2011
Especie x frecuencia x tasa de emisión	1	0.0212	30	0.0570	0.4	0.5468

*Resultados de los ANOVAs mostrando los efectos "especie" y "ajuste" (arriba),
y los efectos "especie", "frecuencia", y "tasa de emisión" (abajo).*

Tabla 6.4.

Estímulo Grave			
Individuo	χ^2	Z	p
Ao21-6.11	113.8	5.3	0.0001
Ao21-6.8	9.8	1.6	0.1174
Ao22-6.4	93.3	4.8	0.0001
Ao22-6.8	36.4	3.0	0.0025
Ao23-6.4	8.5	1.5	0.1440
Ao28-6.4	17.7	2.1	0.0353
Ao29-6.5	25.1	2.5	0.0122

Estímulo Medio			
Individuo	χ^2	Z	p
Ao31-5.4	67.7	4.1	0.0001
Ao31-5.6	20.1	2.2	0.0249
Ao21-6.12	37.5	3.1	0.0022
Ao21-6.13	20.0	2.2	0.0255
Ao21-6.6	15.9	2.0	0.0459
Ao28-6.5	22.4	2.4	0.0180
Ao29-6.6	5.3	1.1	0.2510

Estímulo Agudo			
Individuo	χ^2	Z	p
Ao6-6.3	10.7	1.6	0.1021
Ao6-6.8	12.5	1.8	0.0775
Ao23-6.9	115.1	5.4	0.0001
Ao28-6.3	6.0	1.2	0.2202
Ao29-6.4	58.3	3.8	0.0001

Test de Kolmogorov-Smirnov comparando la distribución de los intervalos entre llamadas de machos cantando solos, y con los tres tipos de estímulos presentados.

Tabla 6.5.

<i>A. obstetricans</i>				
Estímulo A	Estímulo B	n	p media observada	p
G, A	GA	13	0.885	0.0010
M 1°	M 2°	18	0.750	0.0117

<i>A. cistemasii</i>				
Estímulo A	Estímulo B	n	p media observada	p
G, A	GA	14	0.554	0.7266
M 1°	M 2°	16	0.781	0.0225
M 1 ^{oa}	M 2 ^{oa}	15	0.453	0.4531

Resultados de los experimentos de fonotaxis en ambas especies.

G, A: una llamada de un macho grande (grave)

seguida de una llamada de un macho pequeño (aguda) con un un ángulo fase de 180°.

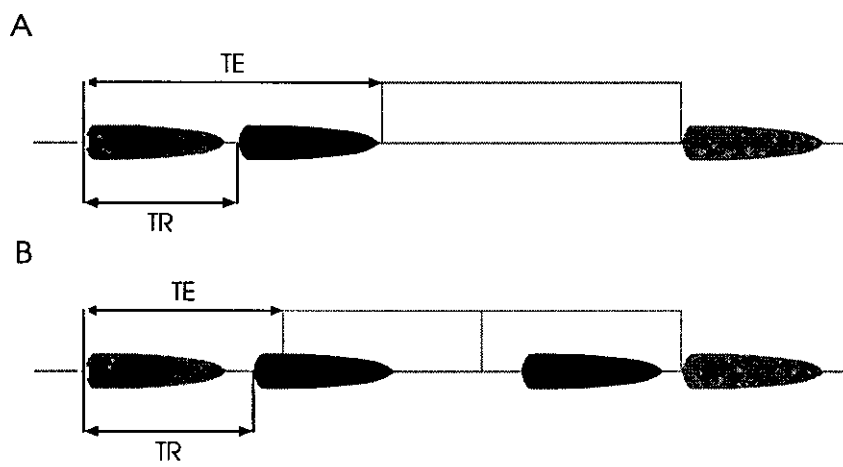
G, A: una llamada de un macho grande (grave) seguida de una llamada de un macho pequeño (aguda) con un un ángulo fase de 90°. M 1°: llamada de un macho mediano emitida siempre en primer lugar.

M 2°: llamada de un macho mediano emitida siempre en segundo lugar

(ángulo fase entre M 1° y M 2°, 90°) (experimento realizado a temperatura artificialmente baja)*

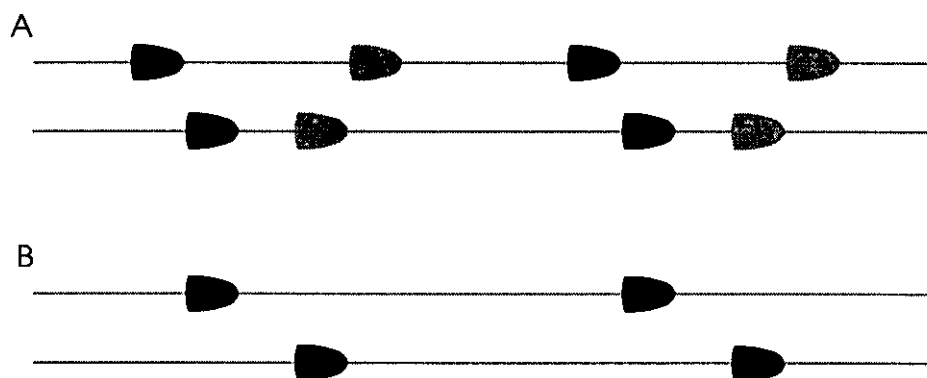
(los estímulos más elegidos en cada experimento aparecen en negrita).

Figura 6.1.



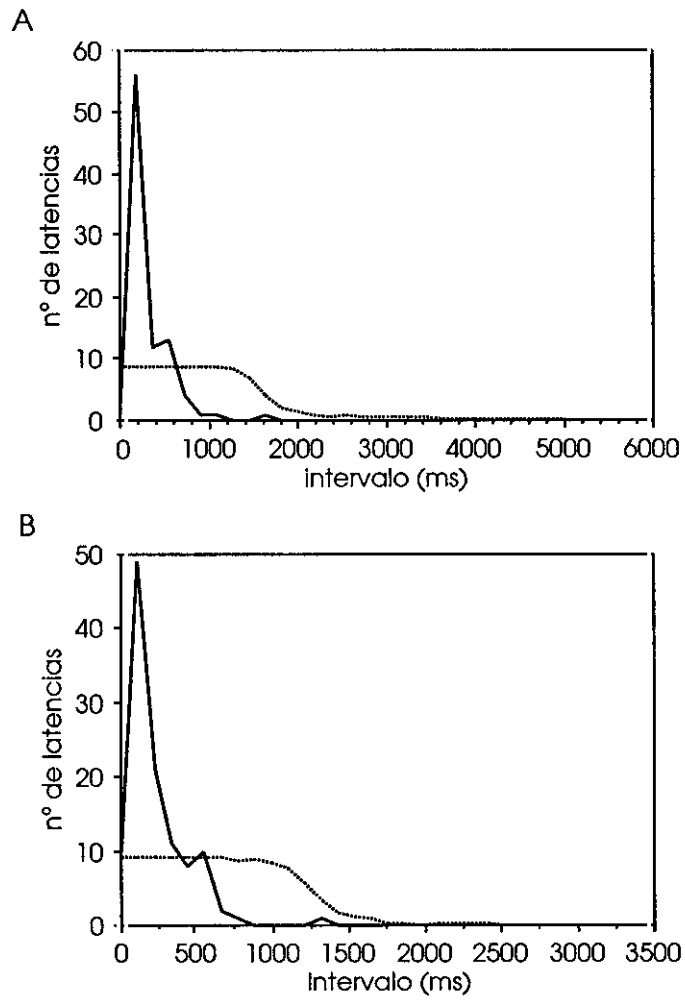
*Tiempo de respuesta (TR) al estímulo, y tiempo de respuesta esperado (TE)
(gris claro, estímulos; gris oscuro, respuestas)
A) una sola respuesta entre dos estímulos, B) dos respuestas entre estímulos.*

Figura 6.2.



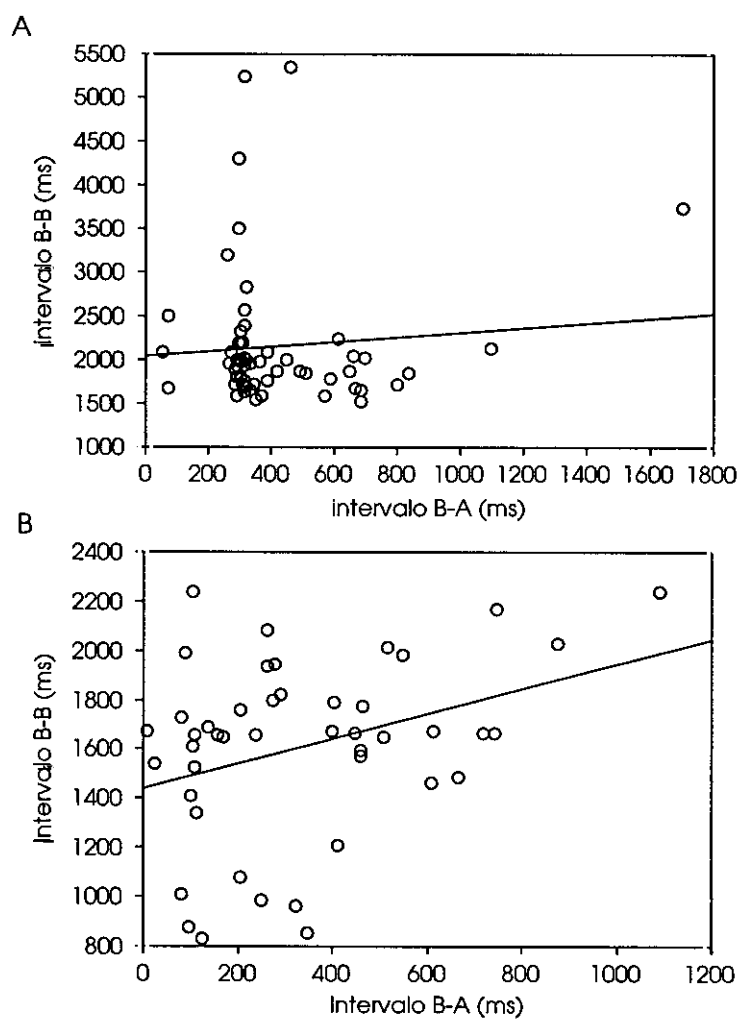
*Alternativas presentadas en los experimentos de fonotaxis. A) macho grande y macho pequeño cantando con un ángulo fase de 180° vs. macho grande y macho pequeño cantando con un ángulo fase de 90°
B) macho grande cantando siempre en primer lugar vs. macho grande cantando siempre en segundo lugar (negro, macho grande; gris, macho pequeño).*

Figura 6.3.



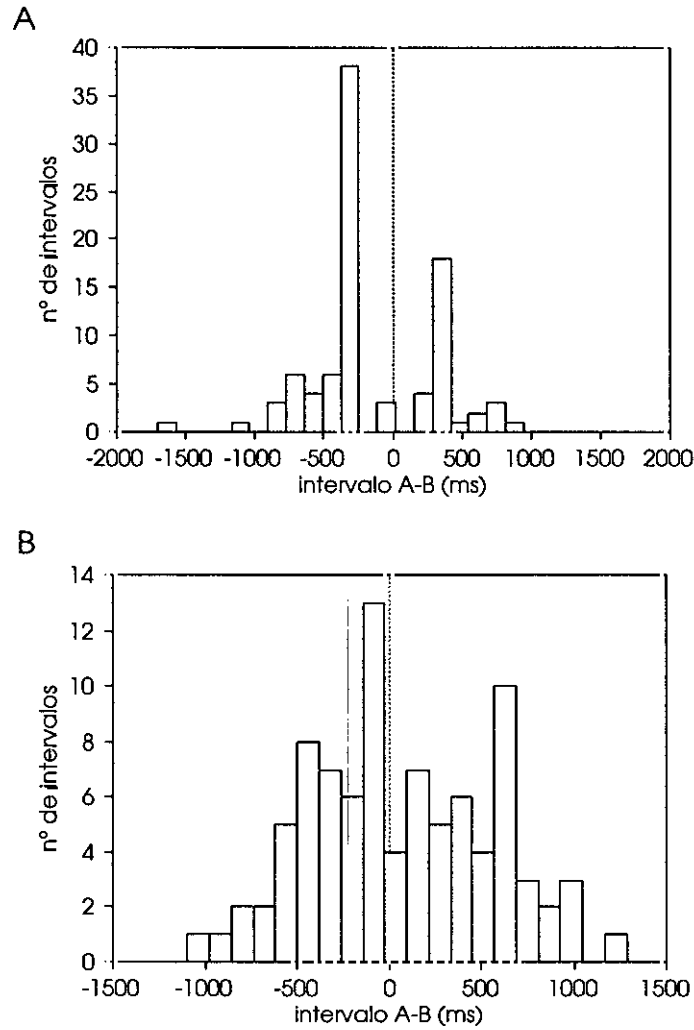
Latencias observadas (línea continua) de un individuo cantando en una interacción acústica junto a otro macho y latencias esperadas por azar (línea de puntos) de ese mismo individuo si cantase de forma no coordinada. A) A. obstetricans, B) A. cisternasi

Figura 6.4.



Relación entre el intervalo B-A y el intervalo B-B en una interacción acústica natural entre dos machos A y B. A) *A. obstetricans*, B) *A. cisternasi*.

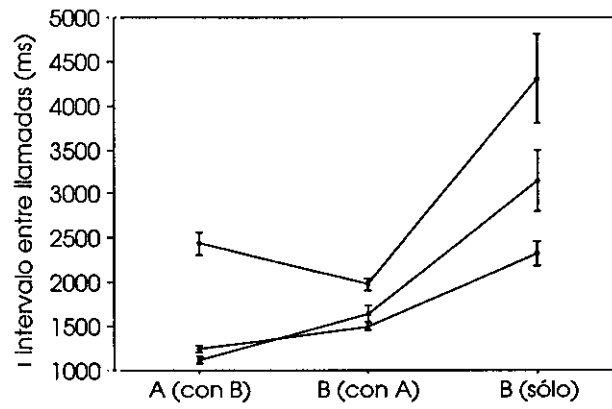
Figura 6.5.



Distribución del intervalo A-B en dos interacciones naturales. Cuando el macho A canta en primer lugar, A-B es positivo; cuando el macho B canta en primer lugar y es seguido por el macho A, A-B es negativo.

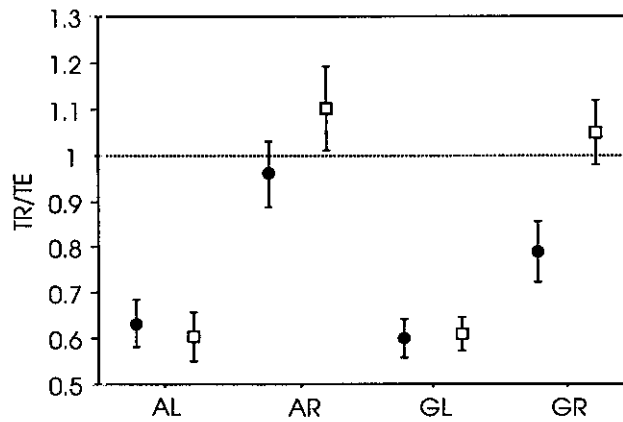
A) A. obstetricans, B) A. cisternasii

Figura 6.6.



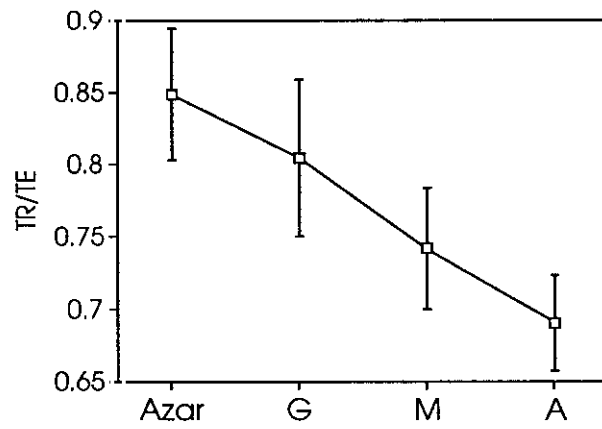
Intervalo entre llamadas de seis machos de *A. obstetricans* (A y B) en tres interacciones acústicas distintas cuando ambos machos cantan juntos, e intervalo entre llamadas del macho B cuando el macho A deja de cantar (B sólo) (media \pm error estándar).

Figura 6.7.



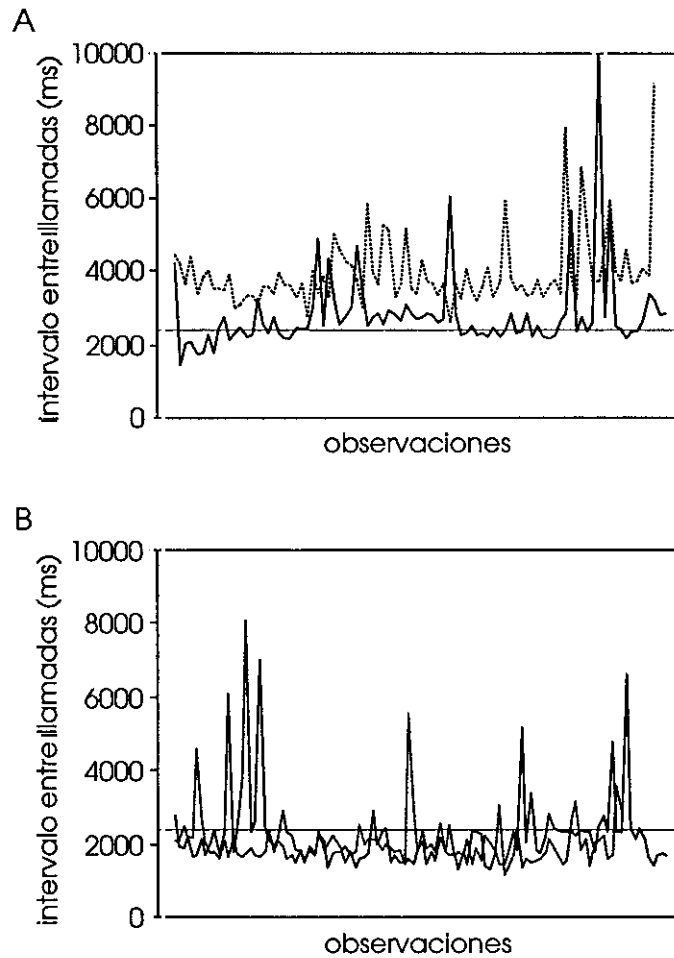
Relación entre el tiempo de respuesta (TR) y el tiempo esperado (TE) en los cuatro experimentos de playback a corto plazo realizados para ambas especies (AL: agudo-lento, AR: agudo-rápido, GL: grave-lento y GR: grave-rápido) (círculos negros, *A. cisternasi*; cuadrados blancos, *A. obstetricans*).

Figura 6.8.



Relación entre el tiempo de respuesta (TR) y el tiempo esperado (TE) en los cuatro experimentos de playback a largo plazo realizados en *A. obstetricans*. (Azar: estímulo de frecuencia media distribuido al azar en el tiempo; G: estímulo grave; M: estímulo agudo; A: estímulo agudo).

Figura 6.9.

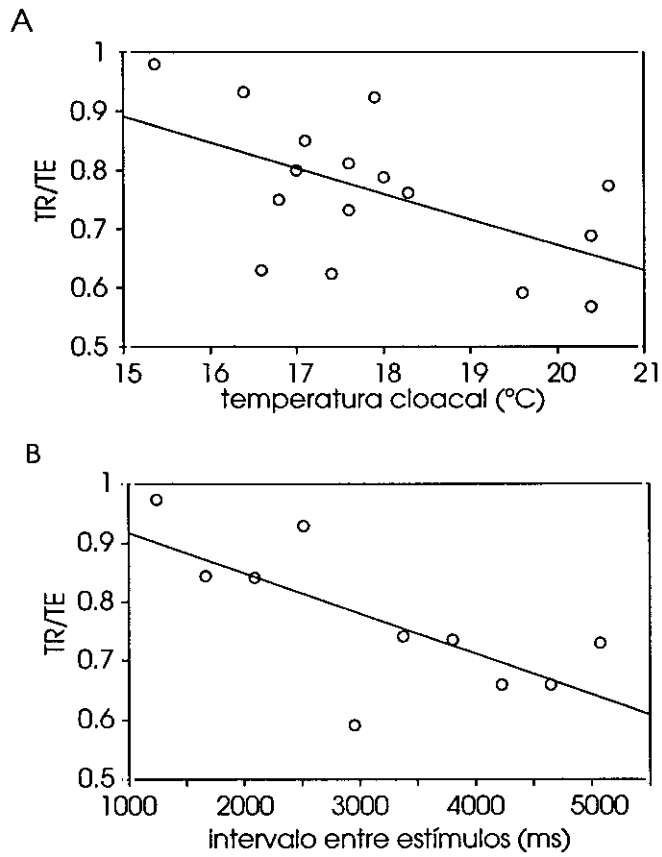


*Intervalo entre llamadas de dos machos de *A. obstetricans* cantando solos (línea de puntos) y durante el periodo de estimulación acústica (línea continua) (línea horizontal, intervalo entre estímulos).*

A) El intervalo entre llamadas se acorta para ajustarse al intervalo entre estímulos

B) El intervalo entre llamadas del macho cantando solo, coincide en gran medida con el intervalo entre estímulos, por lo que el intervalo entre llamadas no se modifica.

Figura 6.10.



A) Relación entre la temperatura cloacal del macho y su ajuste al estímulo (TR/TE) en *A. cisternasi*;

B) Relación entre el intervalo entre estímulos y ajuste al estímulo (TR/TE) en *A. cisternasi*.

Capítulo 7

INTERACCIONES ACÚSTICAS
MACHO-MACHO Y SELECCIÓN DE
PAREJA EN *ALYTES OBSTETRICANS*
Y *A. CISTERNASII* (PARTE II).
SOLAPAMIENTO ENTRE LLAMADAS.

RESUMEN

*Se plantea si los solapamientos de llamadas constituyen un elemento importante en la competencia acústica entre machos. Además, se estudia el efecto de estos solapamientos en el comportamiento fonador de los machos y en las preferencias de las hembras. En las interacciones naturales los solapamientos no se producen en menor medida de lo esperado. Mediante experimentos de playback interactivos se comprueba que, los machos de *A. cisternasii* cuya llamada es solapada en el tiempo por la de un competidor, disminuyen su tasa de emisión de llamadas. Las dos especies estudiadas responden de forma diferente ante medios acústicos muy saturados: *A. obstetricans* es capaz de emitir sus llamadas en los periodos entre estímulos, mientras que esto no sucede en *A. cisternasii*. Las hembras de ambas especies discriminan en contra de las llamadas solapadas, y no son capaces de discernir entre el macho que canta en primer lugar y el macho que contesta cuando las llamadas se solapan. El solapamiento entre llamadas no parece constituir un elemento en la competencia acústica entre machos, pero sí juega un papel importante en la comunicación porque las llamadas solapadas pierden atractivo para las hembras.*

INTRODUCCIÓN

Como vimos en el capítulo anterior, las interferencias acústicas por solapamiento de las llamadas son sin duda, una de las muchas fuerzas de selección que pueden provocar entre especies la diferenciación de los lugares de llamada, de las estaciones reproductoras o de los horarios en los períodos de actividad de canto (GERHARDT 1994a).

Aunque el solapamiento entre llamadas de diferentes especies puede jugar un papel importante en comunidades multiespecíficas complejas, lógicamente los solapamientos entre llamadas de machos conespecíficos resultan ser mucho más frecuentes ya que éstos comparten los mismos nichos ecológicos y presentan llamadas con estructuras temporales y espectrales semejantes. Además, los cambios evolutivos tendentes a reducir las interferencias entre machos interespecíficos no sirven en las interacciones intraespecíficas.

En algunas especies de anuros se ha demostrado que las interferencias interespecíficas pueden afectar a las preferencias de las hembras (SCHWARTZ y WELLS 1983b; GERHARDT y SCHWARTZ 1994) aunque, como es lógico, las interferencias intraespecíficas resultan ser aún más importantes en los procesos de selección de las hembras (p.e. IBAÑEZ 1993; SCHWARTZ 1993).

En muchas especies de anuros los machos pueden ajustar sus llamadas alternándolas en el tiempo para evitar solapamientos con las llamadas de los vecinos (p.e. WALKOWIAK 1992; GIVEN 1993; GRAFE 1996). Aunque se admite en general que las interacciones acústicas entre machos son mecanismos destinados a evitar el solapamiento de las llamadas (p.e. LITTLEJOHN y MARTIN 1969; WHITNEY y KREBS 1975b; NARINS y CAPRANICA 1978; NARINS 1982; ZELICK y NARINS 1982), en muy pocas especies se ha podido constatar que los

solapamientos entre llamadas se producen en menor medida de los que cabría esperar por azar (KLUMP y GERHARDT 1992).

SCHWARTZ (1987) encuentra evidencias de que la alternancia de llamadas, frente al solapamiento de éstas, puede estar destinada por un lado a mantener el espacio entre machos cantores, y por otro a preservar la información temporal codificada en las llamadas a la hora de atraer hembras conespecíficas, y rechaza la hipótesis de la utilidad de las llamadas alternadas para la mejor localización de los machos cantores. Posteriormente GRAFE (1996) demuestra en *Hyperolius marmoratus* que las hembras no tienen dificultad para encontrar los altavoces que emiten simultáneamente llamadas con solapamiento; además, las hembras prefieren llamadas con poca modulación de amplitud, por lo que las llamadas alternadas tendrían ventaja sobre las solapadas, ya que estas últimas al sumarse presentan una modulación mayor.

El estudio de los solapamientos entre llamadas tradicionalmente ha sido abordado desde una situación experimental ideal, con sólo dos individuos interaccionando entre sí, o con un individuo interaccionando con los estímulos de un playback. Sin embargo, aunque estos estudios puedan parecer extremadamente reduccionistas, BRUSH y NARINS (1989) estudiaron el comportamiento fonador de *Eleutherodactylus coqui* en densos agrupamientos de machos cantores y desarrollaron un modelo que explicaba dicho comportamiento: los machos pueden maximizar la efectividad de sus llamadas eludiendo los solapamientos con sólo dos vecinos. Además GERHARDT y KLUMP (1988) comprobaron que las hembras de *Hyla cinerea* no son capaces de localizar con exactitud la situación de los machos cantores cuando el nivel de presión de sonido del coro es similar al del macho en cuestión, y por tanto existe un alto grado de solapamiento de llamadas; sugiriendo que en densos agrupamientos de machos cantores las hembras realmente sólo eligen entre un cierto número reducido de éstos.

El estudio de los solapamientos entre llamadas desde el punto de vista experimental requiere inevitablemente el uso de experimentos de playback interactivos. Con esta metodología los estímulos presentados pueden tener un ajuste temporal que no es posible conseguir con los experimentos de playback tradicionales. El uso de experimentos de playback interactivos en el estudio de las interacciones acústicas en anuros está todavía restringido por las dificultades técnicas que supone (p.e. NARINS 1982, SCHWARTZ 1987, 1991, 1993; SCHWARTZ y RAND 1991).

*En este capítulo estudiaremos si la disposición temporal de las llamadas de los machos de *A. obstetricans* y *A. cisternasii* observada en la naturaleza, y que como vimos en el capítulo anterior no se produce al azar, implica un menor grado de solapamiento entre llamadas de lo que se esperaría si los machos cantasen de forma no coordinada. Además, estudiaremos el efecto sobre el comportamiento de los machos cantores del solapamiento de sus llamadas con las llamadas de los vecinos, y las repercusiones de estos solapamientos en las preferencias de las hembras.*

MATERIAL Y MÉTODOS

SOLAPAMIENTO ENTRE LLAMADAS EN LAS INTERACCIONES NATURALES

Con objeto de estudiar si en las interacciones acústicas entre machos, el número de solapamientos que se produce es menor de lo que cabría esperar si ambos machos cantasen de forma no coordinada, se construyó una aplicación informática en ZBasic denominada SOLAP (ver Anexo II).

En primer lugar, en una interacción natural en la que dos machos se encuentran cantando juntos, SOLAP calcula: 1. el porcentaje de llamadas de ambos machos que no presentan solapamientos con otras llamadas, 2. porcentaje de las interacciones acústicas en las que se producen solapamiento entre llamadas, y 3. porcentaje medio de solapamiento de las llamadas de cada macho.

Después SOLAP construye una secuencia ficticia de llamadas para cada macho tomando al azar todos y cada uno de los valores de los intervalos entre llamadas de cada macho. Las dos secuencias creadas al azar de los dos machos se superponen y SOLAP vuelve a calcular el porcentaje de llamadas sin solapamiento, el porcentaje de las interacciones con solapamiento, y el porcentaje medio de solapamiento de las llamadas (fig. 7.1, pág. 117). El proceso de creación de secuencias al azar y su posterior análisis se repite 1000 veces y se calcula la probabilidad de los valores obtenidos en el análisis de las interacciones naturales en función de la distribución de los parámetros calculados en las 1000 simulaciones. Por último, los desvíos de los valores obtenidos en el análisis de las interacciones naturales, frente a los esperados por azar se analizaron mediante una t de Student.

EFECTO DEL SOLAPAMIENTO DE LAS LLAMADAS EN EL COMPORTAMIENTO FONADOR DE LOS MACHOS

Para estudiar el efecto sobre los machos cantores de los solapamientos de sus llamadas se realizaron experimentos de playback interactivos con ordenador utilizando una aplicación desarrollada en HyperCard para Macintosh denominada CSER (ver Anexo I). CSER es capaz de detectar la emisión de un sonido y emitir, tras un tiempo de retraso establecido, cualquier señal acústica que se haya seleccionado. La señal acústica empleada como estímulo, consistía en una llamada sintética (22kHz, 8 bits) construida a partir de un tono puro con la duración y frecuencia medias de la población estudiada, y ajustando su envolvente a la de una llamada natural.

Cuando un macho se encontraba cantando de forma aislada (sin otro macho cantando a menos de 5 metros) se instalaba el sistema de playback que consistía en un micrófono direccional conectado a una grabadora y un micrófono y un pequeño altavoz conectados a un ordenador PowerBook 165c. Después de registrar el canto del macho durante al menos 10 llamadas se realizaron 2 experimentos de playback con más de 10 estímulos cada uno que también fueron registrados en cinta. El volumen del ruido ambiente entre las llamadas del macho se empleaba para calibrar el sistema, y la presión de sonido de los estímulos se ajustó a 70 dB (a 1 metro). En un primer experimento el tiempo de retraso se fijó en 250 ms, con lo que se simulaba una interacción natural en la que un supuesto macho respondía al macho analizado, cantando a continuación de éste sin que sus llamadas se solapasen en el tiempo. En un segundo experimento el tiempo de retraso era de sólo 50 ms, con lo que la llamada sintética emitida por el ordenador se solapaba con la llamada del macho analizado.

El número de llamadas por minuto antes y durante los experimentos se compararon mediante un test de Wilcoxon.

EFECTO DE LA SATURACIÓN DEL MEDIO ACÚSTICO EN EL COMPORTAMIENTO DE LOS MACHOS

Con objeto de comprobar si los machos son capaces de coordinar sus llamadas en el tiempo para evitar solapamientos dentro de un coro extremadamente saturado de machos cantando, se realizó otro experimento de playback con llamadas sintéticas. En este caso se utilizó una secuencia de 35 series de

estímulos (de los cuales los 5 primeros se consideraron de acostumbramiento y por tanto no se incluyeron en los análisis) que consistían en intervalos de 5 segundos con múltiples llamadas de machos creando un coro extremadamente complejo (formado por llamadas sintéticas graves, medias y agudas dispuestas al azar), seguidos de intervalos de 2 segundos de silencio (fig. 7.2, pág. 118). Cuando un macho se encontraba cantando de forma aislada se situaba un cassette Sony TCM-84V a una distancia aproximada de un metro que emitía los estímulos a una presión de sonido de unos 70 dB en el lugar del macho cantor. Los estímulos junto con la respuesta del macho eran registrados de la forma habitual. Posteriormente se comparó para cada macho mediante una *t* de Student el número de llamadas por minuto en los períodos con saturación de llamadas y en los períodos de silencio.

EFECTO DEL SOLAPAMIENTO DE LAS LLAMADAS DE LOS MACHOS EN LOS PATRONES DE SELECCIÓN DE LAS HEMBRAS

Para estudiar el efecto de los solapamientos de las llamadas de los machos sobre las preferencias de las hembras se realizaron varios experimentos de fonotaxis. La metodología empleada fue semejante a la comentada hasta ahora. En estos experimentos se utilizaron estímulos que consistían en llamadas sintéticas de dos machos que podían o no solaparse en el tiempo. Se utilizaron llamadas sintéticas graves y agudas que se construyeron de la forma habitual (tasa de emisión de cada macho: 24.5 llamadas/minuto en *A. obstetricans* y 26.9 llamadas/minuto en *A. cisternasi*). Los estímulos empleados fueron los siguientes:

- G, A: llamadas de dos machos (una con frecuencia espectral grave correspondiente a un macho grande y otra de frecuencia aguda correspondiente a un macho pequeño) que cantan aternativamente sin solaparse (ángulo fase 180°)
- G/A: llamadas de dos machos (una con frecuencia espectral grave correspondiente a un macho grande y otra de frecuencia aguda correspondiente a un macho pequeño) que emiten sus llamadas de forma que la llamada del macho grande se solapa en un 50% en el tiempo por la llamada de un macho pequeño
- A/G: igual que la anterior pero invirtiendo el orden (el final de la llamada del macho pequeño se solapa por la del macho grande)
- A: llamada de un macho pequeño

Para *A. obstetricans* se realizaron los siguientes experimentos de fonotaxis: G, A *vs.* G/A; G, A *vs.*

A/G; A vs. G/A; y A vs. A/G. Para *A. cisternasii* se realizaron los siguientes experimentos: G, A vs. G/A; y G/A vs. A/G (fig. 7.3, pág. 119).

El comportamiento de cada hembra fue analizado 4 veces en distintas noches, y al final se asignó la probabilidad a cada hembra para el estímulo más elegido (p. e. si una hembra respondía 3 de las 4 veces, y en dos de ellas elegía el estímulo preferido, la probabilidad asignada para ese estímulo era de 2/3). En cada experimento las probabilidades de todas las hembras se compararon con la probabilidad esperada por azar (0.5) mediante un test de los signos para una muestra.

RESULTADOS

SOLAPAMIENTO ENTRE LLAMADAS EN LAS INTERACCIONES NATURALES

Los resultados obtenidos en las simulaciones realizadas con SOLAP se muestran en la tabla 7.1 (pág. 114). En *A. obstetricans* sólo aparecen resultados significativos en 2 de las 7 interacciones estudiadas, en *A. cisternasii* se encuentran diferencias significativas en 2 de las 9 interacciones analizadas. Es decir, sólo estos machos están consiguiendo un menor índice de solapamientos en sus llamadas de los que cabría esperar por azar. Sin embargo, considerando todos los casos estudiados en conjunto en ambas especies, el desvío observado de todos los parámetros analizados respecto a lo esperado por azar no es significativamente distinto de cero. Es decir, los machos en general cuando cantan de forma coordinada con llamadas muy próximas en el tiempo no consiguen un solapamiento menor (un menor número de llamadas solapadas, o una mayor proporción de interacciones sin solapamiento, o un porcentaje menor de solapamiento en sus llamadas) que si cantasen de forma no coordinada entre ellos.

EFEECTO DEL SOLAPAMIENTO EN EL COMPORTAMIENTO FONADOR DE LOS MACHOS

En *A. cisternasii* en el primer experimento realizado con CSER, el tiempo de retraso medio real fue de 257 ms, y el tiempo medio real entre el final de la llamada del macho analizado y el inicio del estímulo fue de 79.7 ms. En el segundo experimento el tiempo medio real de retraso fue de 60 ms, con lo

que se obtuvo un porcentaje medio de solapamiento de las llamadas de los machos estudiados del 37.6%.

Como cabía esperar, el número de llamadas por minuto de los machos se incrementó en el primer experimento respecto al control ($n=14$, $Z=-2.2$, $p=0.0303$), mientras que en el segundo experimento no se encontraron diferencias significativas entre el número de llamadas por minuto durante el control y durante el experimento ($n=14$, $Z=-0.2$, $p=0.8261$). Por último, el número de llamadas por minuto resultó ser significativamente distinto durante ambos experimentos ($n=14$, $Z=-3.0$, $p=0.0023$). Es decir, los machos que incrementan la tasa de repetición de sus llamadas cuando son contestados sin que sus llamadas queden solapadas por un supuesto competidor, responden disminuyendo la tasa de emisión de sus llamadas cuando dicho supuesto competidor emite llamadas que se solapan con las suyas.

EFECTO DE LA SATURACIÓN DEL MEDIO ACÚSTICO EN EL COMPORTAMIENTO DE LOS MACHOS

Los resultados obtenidos para 4 machos de *A. obstetricans* y para 11 machos de *A. cisternasii* se presentan en la tabla 7.2 (pág. 115). En *A. obstetricans* aparecen resultados significativos en todos los machos estudiados, incrementándose la tasa de repetición de las llamadas en los períodos de silencio. En *A. cisternasii* por el contrario aparecen resultados significativos en 7 de los 11 machos analizados, pero en dirección opuesta a la anterior, es decir, los machos emiten un mayor número de llamadas por unidad de tiempo en los períodos con saturación acústica del medio.

EFECTO DEL SOLAPAMIENTO DE LAS LLAMADAS DE LOS MACHOS EN LOS PATRONES DE SELECCIÓN DE LAS HEMBRAS

Los resultados obtenidos en los experimentos de fonotaxis aparecen en la tabla 7.3 (pág. 116). En ambas especies las hembras prefieren coros de dos machos que cantan sin solapar sus llamadas, frente a coros de dos machos que solapan sus llamadas en el tiempo. En *A. obstetricans* las hembras no muestran mayor preferencia por las llamadas solapadas de dos machos (aunque una de ellas sea una llamada grave muy atractiva), frente a una llamada poco atractiva (llamada aguda) de un macho. Además, en ambas especies no se observan diferencias en las preferencias de las hembras en función de si es el macho más atractivo el que solapa su llamada, o si es el macho menos atractivo (para *A. obstetricans* un test de

Wilcoxon entre las probabilidades observadas de cada hembra por parejas de experimentos no muestra resultados significativos: *G,A vs. G/A* frente a *G,A vs. A/G*, $n=12$, $Z=-0.539$, $p=0.5898$; *A vs. G/A* frente a *A vs. A/G*, $n=9$, $Z=0$, $p=1$).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos con los experimentos de playback indican que las repercusiones del solapamiento de las llamadas son claras en los machos de *Alytes*. Sin embargo, sorprende el hecho de que no se encuentren resultados significativos en el grado de solapamiento en las interacciones naturales. WELLS (1975a) propone que la mejor sincronización de las llamadas, y por tanto el mayor solapamiento entre llamadas, aparecería en especies que atraen hembras a las zonas de reproducción mediante cantos, pero que obtienen los apareamientos sobre todo mediante búsquedas activas más que por atracción acústica. Desde luego éste no es el caso de *Alytes* donde la corta duración de la llamada y el amplio intervalo entre llamadas, hacen casi imposible la sincronización en el tiempo de varios machos para conseguir que sus llamadas se transmitan a mayor distancia. Además, los machos de *Alytes* permanecen inmóviles hasta que la hembra se acerca al macho para iniciar el amplexo (HEINZMANN 1970; MÁRQUEZ y VERRELL 1991).

Aunque la explicación de que una rápida respuesta de un macho frente a la llamada de un competidor es la forma más segura de reducir al máximo el número de llamadas solapadas, es sin duda una explicación convincente, en este caso particular el riesgo de conseguir el efecto contrario es alto. Al ser las llamadas de *Alytes* de una duración extremadamente corta y presentar unos intervalos entre llamadas relativamente largos, la probabilidad de que las llamadas de dos machos solapen por azar es baja. Por otro lado, aunque se sabe que la velocidad de transmisión del sonido por el aire en los anuros es relativamente lenta (330-345 m/s) (DABELSTEEN 1992), en las poblaciones naturales existe una gran proximidad entre machos cantores de *Alytes*. Además, en parientes muy próximos a *Alytes*, como es el género *Bombina*, se ha comprobado la gran rapidez del proceso neuronal que desencadena la respuesta (el tiempo desde que se produce una llamada de un macho hasta que se genera una reacción vocal en otro macho es tan sólo de 120 ms, por lo menos a temperaturas de 20-22°C). Por todo esto, una respuesta rápida de un macho a la llamada de otro puede provocar un solapamiento entre llamadas aunque sea en las zonas iniciales/finales de

las llamadas.

El resultado encontrado en los machos de *A. cisternasii* de incrementar el tiempo entre llamadas cuando otro macho cercano provoca solapamiento entre llamadas, es similar al encontrado por SCHWARTZ (1993). Sin embargo, parece que este tipo de respuesta no es del todo válida cuando un macho concreto se enfrenta a un denso agrupamiento de machos cantando.

El resultado obtenido en *A. obstetricans* en los experimentos de saturación del medio acústico es similar al encontrado por GRAFE (1996): los machos hacen coincidir sus llamadas en los espacios entre estímulos, aún a costa de reducir la tasa de emisión de sus llamadas. Sin embargo, en *A. cisternasii* la respuesta se produce en la dirección opuesta: los machos incrementan más su tasa de emisión en los períodos de estimulación acústica, aunque sus llamadas queden enmascaradas dentro del coro. SCHWARTZ (1991) también encontró que los machos de *Hyla microcephala* no son capaces de evitar los solapamientos en un playback que simulaba coros naturales, aunque los machos en interacciones simples de dos individuos o en playback con llamadas aisladas, eran capaces de coordinar sus llamadas en el tiempo para evitar solapamientos. Las diferencias de comportamiento observadas entre ambas especies de *Alytes* podrían deberse a la diferencia en el carácter prolongado/explosivo de su reproducción. Los machos de *A. cisternasii*, al menos en la población estudiada, se congregan en el espacio y en el tiempo en número más elevado que los de *A. obstetricans*, por lo que los solapamientos entre llamadas podrían ser inevitables, y por tanto, los mecanismos tendentes a corregirlos tendrían una presión de selección menor.

La explicación de que las hembras seleccionan en los experimentos de fonotaxis las llamadas alternadas frente a las solapadas por una mera cuestión del tiempo de estimulación acústica (dos llamadas solapadas tendrían un 25% menos de duración que dos alternas) no tiene sentido, ya que en los experimentos en los que las hembras debían elegir entre dos llamadas solapadas frente a una llamada sola, no seleccionaron ninguna de forma significativa.

Las hipótesis propuestas por SCHWARTZ (1987) para explicar la utilidad de las llamadas alternadas frente a las solapadas plantean problemas para ajustarse en este caso. La primera explicación que supone la utilidad de este mecanismo para mantener el espacio entre machos cantores, no puede aplicarse aquí, ya que en numerosas ocasiones, y en ambas especies, los machos pueden cantar extremadamente próximos

(incluso varios machos en la misma galería o bajo la misma piedra) llegando a producirse amplexos en esas circunstancias.

La segunda explicación sobre la preservación de la información específica codificada en el aspecto temporal de la llamada, podría no ser relevante en este caso; aunque está claro que las llamadas solapadas pierden atractivo para las hembras, la extrema simplicidad temporal de las llamadas de *Alytes* (llamadas tonales sin modulación de amplitud) en comparación con las de otras especies estudiadas (llamadas pulsadas con grandes modulaciones de amplitud), no justificaría que los solapamientos hicieran las llamadas irreconocibles para las hembras. Sin embargo, el componente espectral de las llamadas podría sufrir fuertes variaciones como consecuencia de los solapamientos. La suma de las ondas en fases diferentes, puede provocar la aparición de frecuencias armónicas que pudieran hacer las llamadas irreconocibles para las hembras.

Por último, la tercera explicación sobre la utilidad de las llamadas alternadas para la localización de los machos cantores, para la que ni SCHWARTZ (1987) ni GRAFE (1996) encuentran evidencias, podría sin embargo tener importancia en *Alytes*. El hecho de que las hembras de *Alytes* hayan desarrollado un sistema de comunicación acústica con los machos es extremadamente raro en anuros. Además, el que este mecanismo haya sido atribuido a mejorar la localización del macho cantor por parte de la hembra en los últimos tramos de la aproximación antes del amplexo (MÁRQUEZ y VERRELL 1991), y el hecho de que los machos de *Alytes* sean propensos a cantar enterrados o dentro de grietas, y en general en situaciones espaciales difíciles de localizar, podría sugerir que otros mecanismos tendentes a mejorar la localización espacial de los machos cantores (como el no solapamiento de llamadas) o facilitar la elección de la hembra (BUSH *et al.* 1996), podrían estar seleccionados. Sin embargo, en los experimentos de fonotaxis en los que la hembra debía elegir entre una sola llamada poco atractiva (aguda) frente a dos llamadas solapadas (una de ellas de gran atractivo), las hembras localizaban perfectamente las llamadas solapadas, de tal forma que la mitad de las hembras prefirieron esta opción.

OTTE (1974) sugiere que algunos individuos podrían intentar interferir en la señal de otro individuo para impedir que consiga atraer hembras, pero ALEXANDER (1975) señala que este comportamiento también implica reducir la eficacia del macho que provoca el solapamiento de las llamadas. GRAFE (1996) encuentra que las hembras en las llamadas solapadas, prefieren a los machos que cantan en primer lugar. Sin

embargo, nuestros resultados indican que cuando existen solapamientos de llamadas, las hembras no pueden distinguir entre el macho que canta en primer lugar y el que lo hace en segundo lugar, por lo que la hipótesis de OTTE (1974) no parece tener un significado adaptativo.

Tabla 7.1.

A. obstetricans

Grabación	% de llamadas sin solapamiento			% de interacciones con solapamiento			% medio de solapamiento de las llamadas macho A			% medio de solapamiento de las llamadas macho B		
	Obs.	desvío	p	Obs.	desvío	p	Obs.	desvío	p	Obs.	desvío	p
14-6.2	97.1	0.048	0.017	3.3	-0.056	0.011	0.9	-0.033	0.010	0.7	-0.029	0.006
21-6.3	83.1	-0.067	0.955	17.9	0.053	0.861	7.3	0.023	0.855	7.4	0.023	0.850
30-5.4	92.1	0.025	0.173	7.3	-0.056	0.062	2.8	-0.021	0.100	3.2	-0.024	0.103
30-5.6	94.5	0.034	0.133	5.6	-0.053	0.083	2.9	-0.014	0.200	3.0	-0.015	0.198
31-5.1	92.9	0.063	0.075	6.9	-0.102	0.026	1.0	-0.055	0.005	1.1	-0.058	0.005
31-5.2	91.9	0.020	0.287	9.3	-0.028	0.245	5.7	-0.002	0.505	4.3	-0.001	0.500
9-6.1	96.8	0.104	0.000	3.5	-0.121	0.000	2.2	-0.059	0.005	1.5	-0.043	0.005
	t=1.6 n.s.			t=-2.4 n.s.			t=-2.1 n.s.			t=-2.1 n.s.		

A. cistemasi

Grabación	% de llamadas sin solapamiento			% de interacciones con solapamiento			% medio de solapamiento de las llamadas macho A			% medio de solapamiento de las llamadas macho B		
	Obs.	desvío	p	Obs.	desvío	p	Obs.	desvío	p	Obs.	desvío	p
10-10.1	100.0	0.074	0.007	0.0	-0.089	0.007	0.0	-0.036	0.007	0.0	-0.037	0.007
4-10.1	74.9	-0.044	0.902	27.1	0.024	0.720	18.0	0.053	0.978	12.5	0.037	0.978
4-10.4	80.0	-0.030	0.772	22.4	0.030	0.746	12.1	0.014	0.697	8.1	0.010	0.699
6-10.1	78.5	-0.009	0.592	22.9	-0.011	0.416	9.9	0.004	0.596	13.1	0.006	0.589
6-10.2	85.0	0.027	0.267	16.4	-0.039	0.188	6.0	-0.040	0.050	4.8	-0.032	0.050
6-10.3	0.0	-0.897	0.392	6.4	-0.131	0.016	2.7	-0.012	0.247	6.2	-0.027	0.247
6-10.4	90.9	-0.018	0.686	10.3	0.017	0.630	7.2	0.029	0.850	5.1	0.020	0.850
6-10.5	85.9	-0.049	0.912	16.4	0.048	0.846	10.8	0.043	0.925	6.0	0.024	0.927
6-10.6	100.0	0.071	0.005	0.0	-0.109	0.005	0.0	-0.032	0.005	0.0	-0.046	0.005
	t=0.96 n.s.			t=-1.31 n.s.			t=-0.22 n.s.			t=-0.49 n.s.		

Resultados obtenidos en las simulaciones con SOLAP. Para cada pareja de machos cantores se muestran los valores observados en la interacción natural, el desvío de este valor frente a la media obtenida por azar en las 1000 simulaciones, y la probabilidad asignada al valor observado en función de las distribuciones de los valores esperados. Los desvíos de los valores observados han sido testados frente a cero mediante una t de Student (n.s. no significativo).

Tabla 7.2.

A. obstetricans

N° de llamadas/minuto

Grabación	con coro	sin coro	GL	t	p
31-5.5	11.4	25.2	58	-4.5	0.0001
6-6.5	12.6	22.2	58	-2.4	0.0224
23-6.10	9.0	25.2	58	-6.0	0.0001
29-6.1	4.8	22.8	56	-6.7	0.0001

A. cistemasi

N° de llamadas/minuto

Grabación	con coro	sin coro	GL	t	p
6-10.8	25.4	20.4	48	1.3	0.2068
6-10.2	61.4	46.8	48	3.2	0.0028
6-10.18	24.0	19.2	48	1.0	0.3029
6-10.14	39.4	30.0	48	1.9	0.0615
6-10.10	29.3	19.2	48	2.6	0.0137
10-10.2	19.3	7.8	44	2.7	0.0107
10-10.4	29.5	4.1	42	6.8	0.0001
11-10.1	32.8	17.4	36	3.8	0.0005
11-10.2	49.8	28.5	38	4.0	0.0003
11-10.4	19.8	7.5	38	10.6	0.0001
11-10.5	17.8	15.6	48	0.6	0.5243

*Resultados obtenidos en los experimentos de playback de saturación
del medio acústico en ambas especies.*

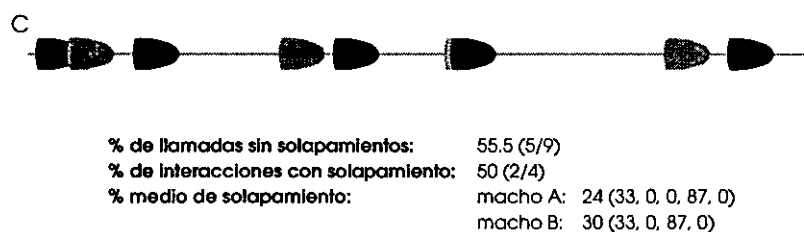
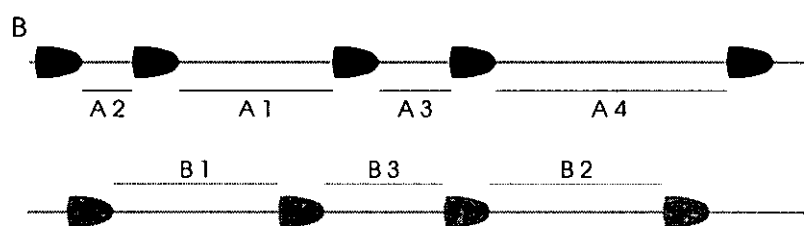
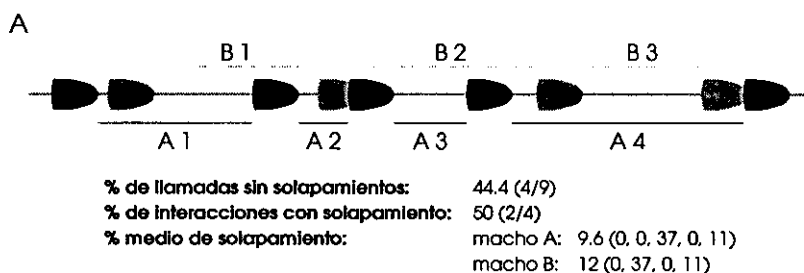
Tabla 7.8.

<i>A. obstetricans</i>				
Estímulo A	Estímulo B	n	p media observada	p
G, A	G/A	14	0.827	0.0010
G, A	A/G	12	0.813	0.0063
A	G/A	11	0.508	1.0000
A	A/G	10	0.550	1.0000

<i>A. cisternasi</i>				
Estímulo A	Estímulo B	n	p media observada	p
G, A	G/A	23	0.790	0.0004
G/A	A/G	25	0.547	0.2101

Resultados de los experimentos de fonotaxis en ambas especies. **G, A**: una llamada de un macho grande (grave) seguida de una llamada de un macho pequeño (aguda) sin que exista solapamiento (ángulo fase 180°). **GA**: una llamada de un macho grande (grave) sobre la que se solapa en un 50% una llamada de un macho pequeño (aguda). **AG**: una llamada de un macho pequeño (aguda) sobre la que se solapa en un 50% una llamada de un macho grande (grave). **A**: una llamada de un macho pequeño (aguda) (los estímulos más elegidos en cada experimento aparecen en negrita).

Figura 7.1.



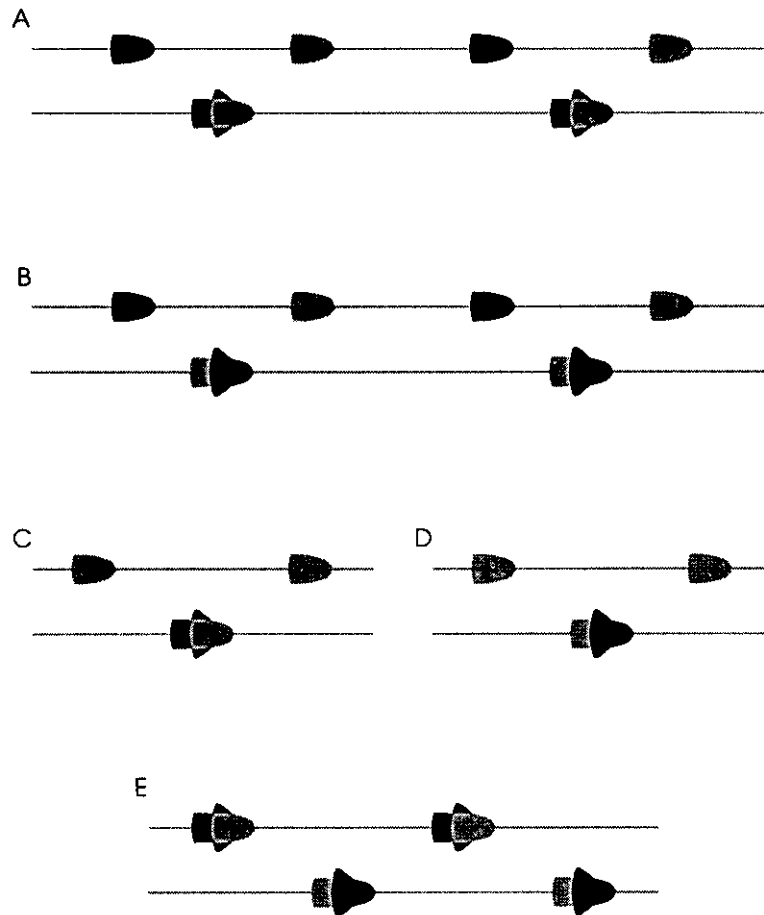
Rutina de actuación de SOLAP. A) Cálculo de los índices de solapamiento en la secuencia natural, B) Creación de dos secuencias ficticias (macho A y macho B) combinando al azar los intervalos entre llamadas de cada macho de la secuencia natural, C) Obtención de la secuencia al azar uniendo las dos secuencias ficticias y cálculo de los índices de solapamiento (A1-A4, B1-B3; intervalos entre llamadas de cada macho).

Figura 7.2.



Oscilograma del estímulo empleado en el experimento de saturación del medio acústico.

Figura 7.3.



Alternativas presentadas en los experimentos de fonotaxis. A) llamada grave seguida de otra aguda (ángulo fase 180°) vs. llamada grave solapada (50%) con otra aguda, B) llamada grave seguida de otra aguda (ángulo fase 180°) vs. llamada aguda solapada (50%) con otra grave, C) llamada aguda vs. llamada grave solapada (50%) con otra aguda, D) llamada aguda vs. llamada aguda solapada (50%) con otra grave, E) llamada grave solapada (50%) con otra aguda vs. llamada aguda solapada (50%) con otra grave (negro, macho grande; gris, macho pequeño)

Capítulo 8

PREFERENCIAS DE LAS HEMBRAS
DE ALYTES OBSTETRICANS
Y ALYTES CISTERNASII
EN MEDIOS ACÚSTICOS COMPLEJOS

RESUMEN

*En este capítulo se plantea si los mecanismos de competencia acústica entre machos pueden influir sobre la expresión de las preferencias de las hembras. Para ello se analiza si las preferencias de las hembras por llamadas de baja frecuencia dominante se mantienen en medios acústicos complejos. Se han realizado experimentos de fonotaxis con 7 altavoces. En el primer experimento "centrado en la media", se presentaron llamadas con frecuencias que abarcaban todo el rango existente en la población. En este experimento las hembras de ambas especies eligieron frecuencias por debajo de la media de la población, aunque la diferencia fue sólo significativa para *A. obstetricans*. Este resultado confirma las preferencias observadas hacia frecuencias bajas (que corresponden a machos grandes) en experimentos de dos altavoces. Para *A. cisternasii*, los resultados sugieren que estas preferencias pueden verse oscurecidas en ambientes acústicos complejos. En un segundo experimento "superestimulos", las hembras fueron expuestas a estímulos con frecuencias por debajo del rango de la población (de -2.25 DE a -6.75 DE). En ambas especies las hembras prefieren llamadas de frecuencia por encima de la media de los estímulos presentados, lo que sugiere que en ambos casos la selección por bajas frecuencias no es direccional y abierta (open-ended), y que esa preferencia está dentro del rango de los machos de la población. En el experimento "centrado en la media", no existe correlación significativa entre frecuencia preferida y tamaño o peso. El efecto del incremento en la tasa de emisión provocado por la competencia acústica, afecta a las preferencias de las hembras, haciendo que estas preferencias no lleguen a determinar la elección del macho.*

INTRODUCCIÓN

Los anuros constituyen un modelo excelente para estudiar fenómenos de selección sexual por elección de pareja (p.e. ARAK 1983b; RYAN 1985; GERHARDT 1994a, 1994b; WAGNER y SULLIVAN 1995). La dependencia de la mayoría de las especies de anuros en la comunicación acústica proporciona dos métodos muy efectivos para estudiar las preferencias de las hembras en la elección de pareja: experimentos neurofisiológicos, que examinan la respuesta del sistema auditivo cuando es estimulado con diferentes sonidos (p.e. CAPRANICA y MOFFAT 1983; LOPEZ 1988; PENNA y NARINS 1989), y experimentos de fonotaxis, en los que se estudia el comportamiento de las hembras cuando se ven expuestas a diferentes llamadas de apareamiento (RYAN y KEDDY-HECTOR 1992; GERHARDT 1994a, 1994b). El significado biológico de los experimentos neurofisiológicos ha sido en parte cuestionado ya que suponen que las curvas de sintonización auditivas obtenidas representan las preferencias de las hembras, si bien muchos de los estudios no consideran las diferencias en intensidad de los sonidos que las hembras pueden percibir en el campo (GERHARDT 1994a).

En la mayoría de los experimentos de fonotaxis se utiliza un diseño experimental simple, en el que a un individuo se le presentan dos estímulos alternativos. Aunque este tipo de diseño es bastante efectivo en numerosas ocasiones (p.e. GERHARDT 1978b; DOHERTY y GERHARDT 1984; ARAK 1988; GERHARDT 1992) los resultados que se obtienen son poco creíbles bajo condiciones acústicas complejas (EHRET y GERHARDT 1980; GERHARDT y KLUMP 1988; NARINS y ZELICK 1988). Se ha demostrado, por ejemplo, que la complejidad de las condiciones acústicas influye en el ajuste temporal de los cantos de los machos de tres especies de *Hyla* (SCHWARTZ 1987, 1993). Por otro lado, GERHARDT (1987) observó una disminución de la capacidad discriminatoria de las hembras en medios con mayor complejidad acústica (experimentos de 4 altavoces). De la misma forma, las preferencias de las hembras se reflejan sólo en la elección de pareja en coros pequeños de

Hyperolius marmoratus (TELFORD *et al.* 1989). Existen comparativamente pocos estudios sobre preferencias de las hembras en los que se trabaje con tres o más fuentes de sonido (p.e. GERHARDT 1987; DYSON y PASSMORE 1992; IBAÑEZ 1993; SCHWARTZ 1993, 1994). Las condiciones acústicas de este tipo de experimentos son obviamente más realistas que los experimentos de dos altavoces, ya que en la naturaleza las hembras tienen que elegir entre llamadas de varios machos que cantan en un coro (RYAN 1991).

En este y en otros trabajos, se han estudiado múltiples aspectos del comportamiento reproductor en diferentes poblaciones de *Alytes*. Como hemos visto, los machos de *A. obstetricans* y *A. cisternasii* cantan en tierra. La llamada de apareamiento consiste en un tono corto (81.7-250.5 ms) y puro (1035-1644 Hz) sin ninguna modulación de frecuencia, y sin otra modulación de la amplitud más que una subida rápida y una larga bajada (CRESPO *et al.* 1989; ver capítulo 3). Las llamadas se emiten a intervalos relativamente largos y regulares (0.8-7.4 s). Las hembras se aproximan a los machos y, una vez cerca, emiten unas llamadas más suaves, entablando un "duetto" con los machos (HEINZMANN 1970; MÁRQUEZ y VERRELL 1991). Los machos pueden aparearse varias veces seguidas, hasta conseguir tres o cuatro puestas que llevan enrolladas en las tibias (READING y CLARKE 1988; MÁRQUEZ 1996). Los machos de mayor tamaño acarrear puestas más grandes ya que se aparean más veces (MÁRQUEZ 1993). Se ha demostrado por medio de experimentos de fonotaxis de dos altavoces que las hembras prefieren y eligen cantos con frecuencias dominantes bajas (correlacionadas negativamente con el tamaño del macho), lo que explicaría en parte la ventaja reproductora de los machos de mayor tamaño (MÁRQUEZ 1995a, 1995b). En *Alytes*, todos los estudios sobre preferencias de elección de las hembras que se han llevado a cabo hasta la fecha se han basado en experimentos de dos altavoces.

En este capítulo analizaremos las preferencias de las hembras en medios acústicos complejos, empleando un sistema informático que nos permite emitir señales a través de siete canales de audio distintos.

Dado que las llamadas de los *Alytes* son cortas y se emiten a intervalos relativamente largos, es posible realizar experimentos multialtavoce emitiendo cantos a intervalos reales sin que los estímulos se solapen, evitándose así los problemas derivados de la degradación y alteración de las llamadas solapadas (BRUSH y NARINS 1989; GRAFE 1996; capítulo 7). Gracias a este diseño multialtavoce podremos analizar si las preferencias expresadas por las hembras en los experimentos de dos altavoces (selección direccional hacia cantos de frecuencias bajas) se mantienen en medios con una complejidad acústica mayor. Además, este diseño permite un análisis más fino de

las frecuencias preferidas por las hembras. Consideraremos también si las frecuencias elegidas se encuentran dentro del rango de frecuencias de las poblaciones o si están fuera del rango (selección *open ended*, GERHARDT 1991; RYAN 1992). Por último, analizaremos si existe una correlación entre las preferencias de las hembras y su tamaño, es decir una buena relación tamaño corporal-sintonización auditiva (RYAN 1988a; ZAKON y WILCZYNSKI 1988).

Todos los resultados de los experimentos se discutirán dentro del marco teórico de diferentes modelos de preferencia de las hembras (LANDE 1981; ARNOLD 1983; RYAN y KEDDY-HECTOR 1992).

MATERIAL Y MÉTODOS

POBLACIONES ESTUDIADAS

Se estudiaron 30 hembras de una población de *A. obstetricans* de la Sierra del Guadarrama (Peñalara), y 21 hembras de una población de *A. cisternasii* de Mérida, durante su período reproductor en 1995. La longitud hocico-cloaca (SVL) de las hembras se tomó como siempre presionándolas ventralmente sobre una regla (precisión 0.5 mm). El peso de las hembras se tomó con una balanza electrónica Quantum (precisión 0.01 g). Las distribuciones de los cantos de los machos de ambas poblaciones eran conocidas (ver capítulo 3).

Los experimentos con la población de *A. obstetricans* se realizaron entre el 23 de mayo y el 4 de abril en la estación Bio-Geológica El Ventorrillo (Madrid). Las hembras de *A. cisternasii* se estudiaron entre el 8 de octubre y el 16 de noviembre en el Pantano de Proserpina (Mérida, Badajoz), a 1 km de la población natural. En ambos casos, los experimentos se efectuaron por la noche (20:00-4:00 horas) y al aire libre.

EXPERIMENTOS DE FONOTAXIS

En este caso se empleó un ordenador Commodore Amiga 500 para generar y emitir los cantos artificiales con la ayuda de una aplicación informática escrita por J. SCHWARTZ. Se conectó la salida estéreo del ordenador a un dispositivo electrónico fabricado a tal efecto (modificado de SCHWARTZ 1993), que permitía separar los dos canales de sonido convencionales (derecho e izquierdo) en 2-7 canales diferentes. Los sonidos se emitieron a través de un amplificador de siete canales construido también a medida y conectado a siete altavoces iguales. Se

colocó un altavoz por detrás de cada lado de un recinto heptagonal fabricado con listones de madera y recubierto por una tela negra (cada lado del heptágono medía 90 cm) que era iluminado por una tenue luz roja. La intensidad de los sonidos emitidos se ajustó, para cada altavoz de forma independiente, por medio de un sonómetro Realistic Sound Pressure Meter, a 70dB en el centro del heptágono (intensidad media de un canto emitido por un macho a 1 m de distancia). Los siete altavoces se conectaron aleatoriamente antes de cada experimento a cada canal de sonido, y entre repeticiones de las sesiones eran conectados a distintos canales y la presión de sonido de cada altavoz ajustada nuevamente.

LLAMADAS SINTÉTICAS UTILIZADAS

Las llamadas sintéticas emitidas eran tonos puros con una envolvente lineal simple imitando las llamadas naturales (fig. 8.1, pág. 133). Se tomó como duración de la llamada sintética la media de las duraciones en cada población que se corresponden con la temperatura media en la zona de reproducción (15°C, 105 ms para *A. obstetricans* y 17°C, 157 ms para *A. cisternasii*). Para *A. obstetricans* el tiempo de subida de las llamadas sintéticas era lineal y del 9.5% de la duración total de la llamada; el tiempo de bajada (también lineal) ocupaba el 90.5 % restante de la duración. En *A. cisternasii*, el tiempo de subida fue del 10.3 %, y el de bajada del 89.7 % (ambas lineales). El intervalo entre llamadas era de 2.3 segundos, un valor contenido en el rango de las poblaciones naturales y que además nos permitió emitir siete llamadas sin solapamiento. Se establecieron dos experimentos diferentes con diferentes frecuencias. En el primer experimento, que denominaremos "centrado en la media", se utilizaron siete estímulos de diferentes frecuencias: la media, cuatro valores dentro del rango de la población y dos valores extremos (media \pm 2.25 DE). Todos los valores de frecuencias se tomaron con los mismos intervalos (0.75 veces la DE de la distribución de la población natural). En el segundo experimento, "superestímulos", se utilizaron 7 valores de frecuencia igualmente espaciados, incluyendo el valor extremo del rango de frecuencias naturales (-2.25 DE) y valores por debajo del rango de la población y en la dirección predicha de preferencia de las hembras (cantos de frecuencia baja), hasta llegar a -6.75 veces la DE. En la tabla 8.1 (pág. 132) aparecen todos los valores de frecuencia utilizados en los experimentos para ambas especies.

PROTOCOLO DE LOS EXPERIMENTOS

Las hembras se colocaban en el centro del heptágono, dentro de un recipiente permeable al sonido, con una orientación al azar. Después de emitir los estímulos durante un minuto, se retiraba el recipiente y las hembras

se aproximaban a cualquier lado del heptágono. Como en otras ocasiones, se consideró que las hembras habían elegido un estímulo si tocaban la pared del recinto justo en algún altavoz o a menos de diez centímetros del borde de éste. Si una hembra no tocaba ninguna pared en tres minutos, o tocaba una pared a más de 10 cm de un altavoz, su elección se consideraba nula. A cada hembra se le sometió a los dos experimentos antes citados (centrada en la media y superestímulos) en tres ocasiones, y en noches distintas. Las frecuencias elegidas por todas las hembras en las tres repeticiones de cada experimento se compararon estadísticamente con las medias de las frecuencias emitidas por los altavoces en cada experimento.

RESULTADOS

En las fig. 8.2 (pág. 134) y 8.3 (pág. 135) aparecen los resultados de los dos experimentos realizados. En el experimento "centrado en la media", la frecuencia media preferida por las hembras de *A. obstetricans* fue de 1130 Hz (DE=56, rango=999-1226), y de 1447 Hz (DE=102, rango=1279-1620) en el caso de *A. cisternasii*. El coeficiente de repetibilidad de cada hembra en ambas especies fue muy bajo (*A. obstetricans* $r=-0.02$, *A. cisternasii* $r=0.2$) por lo que se optó por realizar un test de la *t* de Student independiente para cada una de las tres repeticiones entre la distribución observada y la frecuencia media esperada, y posteriormente se calculó la probabilidad combinada para las tres repeticiones (SOKAL y RHOLF 1988, p. 679). Las hembras de *A. obstetricans* elegían preferentemente (fig. 8.2a, pág. 134) cantos con frecuencias por debajo de la media de las frecuencias de las llamadas de los machos (1157 Hz) ($X^2=17.8$, GL=6, $p=0.007$); la elección de las hembras, por tanto, implica una selección direccional hacia las frecuencias bajas. Las hembras de *A. cisternasii* también prefirieron frecuencias por debajo de la media de las frecuencias de los machos (1471 Hz), aunque la diferencia no es significativa (fig. 8.3a, pág. 135, $X^2=5.8$, GL=6, $p=0.446$), por lo que la selección en esta especie puede no ser direccional.

En el experimento "superestímulos", el coeficiente de repetibilidad de cada hembra también fue muy bajo en ambas especies (*A. obstetricans* $r=0.027$, *A. cisternasii* $r=0.027$). Las frecuencias medias elegidas por las hembras de las dos especies fueron superiores a las frecuencias medias emitidas (*A. obstetricans*, $X^2=17.5$, GL=6, $p=0.008$, fig. 8.2b, pág. 134; *A. cisternasii*, $X^2=16.3$, GL=6, $p=0.012$, fig. 8.3b, pág. 135). Esto sugiere que en *A. obstetricans* la selección no es direccional-abierta (*open ended*). En el caso de *A. cisternasii*, este resultado es coherente con el resultado obtenido en el anterior experimento, donde no se detectó selección

direccional hacia los cantos de frecuencia baja.

Resulta interesante combinar los resultados de los dos experimentos para obtener una idea global de las preferencias a lo largo del rango de todas las elecciones posibles (experimento "centrado en la media") y fuera de este rango hacia la zona de bajas frecuencias (experimento "superestímulos"). Una forma de hacer ésto es considerar que el porcentaje medio de hembras atraídas por el altavoz que emitía la frecuencia más baja en el experimento "centrado en la media", corresponde a hembras que eligieron esta frecuencia porque era la más baja disponible, pero que hubiesen elegido frecuencias aún más bajas si hubiese sido posible. Así por ejemplo, el 22.2 % de todas las hembras de *A. obstetricans* eligieron durante el experimento "centrado en la media" el altavoz que emitía una frecuencia de 999 Hz. Si consideramos que toda la distribución de los resultados del experimento "superestímulos" representa ese 22.2 % de las hembras de *A. obstetricans*, obtenemos la distribución representada en la fig. 8.4 (pág. 136). De esta forma podemos considerar que las barras en esta figura representan la forma de la función de preferencias de las hembras para las frecuencias emitidas en los dos experimentos. Si comparamos la distribución de frecuencias de los cantos de los machos en cada población (círculos blancos en la figura 8.4, pág. 136) con la distribución de las preferencias de las hembras, observamos que la frecuencia modal de las preferencias de las hembras está claramente por debajo de la media de los cantos de los machos en el caso de *A. obstetricans*, y prácticamente coinciden en el caso de *A. cisternasii*. La frecuencia modal preferida fue de 0.38 DE (ó 26 Hz) por debajo de la media de la distribución de los cantos de los machos en *A. obstetricans*, mientras que en *A. cisternasii* tan solo fue de 0.27 DE (ó 23 Hz) por debajo de la media de la distribución de los cantos de los machos. La comparación estadística de la distribución de frecuencias de las llamadas de los machos de la población y la de las frecuencias preferidas por las hembras muestra resultados significativos en *A. obstetricans* (GL=85, $t=1.944$, $p=0.028$) pero no en *A. cisternasii* (GL=78, $t=1.016$, $p=0.156$).

En lo que se refiere a la relación entre tamaño de las hembras y sus preferencias en el experimento "centrado en la media", sólo una de las tres repeticiones efectuadas mostró una relación significativa (correlación negativa) entre el peso de la hembra de *A. obstetricans* y la frecuencia elegida ($n=30$, $r=0.38$, $F=4.93$, $p=0.03$). La probabilidad combinada de las tres repeticiones, sin embargo, no dio un resultado significativo (GL=6, $X^2=9.97$, $p=0.126$). La correlación entre la longitud hocico-cloaca (SVL) y la frecuencia elegida tampoco fue significativa en ninguna de las repeticiones realizadas, así como tampoco lo fue su probabilidad combinada (GL=6, $X^2=3.62$, $p=0.728$). Del mismo modo, en *A. cisternasii* ni el peso ni el SVL estaban significativamente

correlacionadas con la frecuencia elegida (probabilidad combinada para el peso: $GL=6$, $X^2=3.72$, $p=0.714$; para el SVL: $GL=6$, $X^2=4.76$, $p=0.575$).

DISCUSIÓN

Los resultados del experimento centrado en la media concuerdan con los obtenidos en experimentos de fonotaxis con dos altavoces para *A. obstetricans* en estudios previos (MÁRQUEZ 1990, 1995a, 1995b). En estos estudios, se observó selección direccional hacia frecuencias bajas a partir de dos tipos de experimentos con dos altavoces: unos, en los que dos altavoces emitían llamadas sintéticas (1000 Hz, 1150 Hz, y 1300 Hz) en lados opuestos de un recinto donde se soltaba una hembra (MÁRQUEZ 1995a), y otros en los que se contaba el número de hembras atraídas hacia cada uno de dos altavoces que emitían cantos sintéticos de forma continua en el campo (1200 Hz vs. 1500 Hz; MÁRQUEZ 1995a). En el caso de las hembras de *A. cisternasii*, los experimentos de dos altavoces en el laboratorio reflejaron una tendencia en la elección hacia llamadas de baja frecuencia (1364 Hz, 1491 Hz y 1618 Hz; MÁRQUEZ 1995b). En el segundo tipo de experimento (cinta emitiendo llamadas continuamente en el campo) no se consiguió atraer a las suficientes hembras como para obtener resultados significativos (1400 Hz, 1500 Hz, y 1600 Hz; MÁRQUEZ 1990). Todos estos datos previos concuerdan con las observaciones que indican que las frecuencias óptimas de sintonización del sistema auditivo periférico de las hembras de anuros podrían estar por debajo de las frecuencias medias de los cantos de los machos y que ésto afectaría a la elección de pareja (p.e. RYAN *et al.* 1992).

El hecho de que no se obtuviesen resultados significativos en *A. cisternasii* con estos experimentos de siete altavoces, sugiere que las preferencias acústicas de las hembras se atenúan en medios con mayor complejidad acústica. En *Hyla cinerea* (GERHARDT 1987) y *Hyperolius marmoratus* (TELFORD *et al.* 1989) se ha detectado una disminución similar de la selectividad. Además, parece que la preferencia por llamadas de frecuencias bajas está más marcada en *A. obstetricans* que en *A. cisternasii*. Esto contrasta con el hecho de que en ambas especies los machos de mayor tamaño tienen más ventajas para aparearse, y que no se han encontrado diferencias claras en los gradientes de selección *sensu* LANDE y ARNOLD (1983) obtenidos en dos años para cada especie (MÁRQUEZ 1993). Es muy posible que la ventaja de los machos de mayor tamaño observada en *A. cisternasii* se deba más bien a mecanismos de competencia acústica macho-macho, mientras que en *A.*

obstetricans las preferencias de las hembras jueguen un papel más importante en la reproducción (ver capítulo 5).

Las diferencias en la selectividad de las hembras observadas entre ambas especies pueden relacionarse también con la duración de la temporada reproductora de cada especie. La capacidad de elección de las hembras puede estar sometida a una presión de selección mayor en un sistema donde las hembras son capaces claramente de percibir las llamadas de varios machos diferentes; si el ambiente acústico es demasiado complejo, esta percepción puede no ser posible. En las poblaciones con una temporada larga de reproducción (como es el caso de la población estudiada de *A. obstetricans*) las hembras pueden encontrar pocos machos disponibles en una noche porque la estación reproductora es larga y generalmente no todos los machos cantan todas las noches. Por otra parte, en las poblaciones más explosivas (tal es el caso de la población estudiada de *A. cisternasii*), las hembras se exponen a un ambiente acústico mucho más complejo ya que la mayoría de los machos llaman a la vez en coros densos. Aunque como hemos visto (capítulo 7), pueden existir mecanismos para evitar solapamientos entre llamadas de machos próximos, lógicamente en coros densos la probabilidad de solapamiento de las llamadas es mayor que en pequeñas agregaciones de machos. Como vimos en el capítulo 7, en los experimentos de dos altavoces, las hembras de ambas especies discriminaron en contra del altavoz que emitió llamadas solapadas. El fenómeno es similar al observado en *Hyperolius marmoratus* donde las preferencias de las hembras sólo se expresaban en coros pequeños (TELFORD *et al.* 1989). GERHARDT y KLUMP (1988) encontraron también que la precisión de localización de los machos por las hembras de *Hyla cinerea* disminuía cuando el ruido de fondo de los coros era relativamente alto.

Una explicación alternativa puede basarse en las diferencias en la variación en la disponibilidad de machos en las dos especies. Aunque las hembras de *A. obstetricans* puedan tener un número más limitado de machos sobre los que ejercer su selección, la variación de la frecuencia de las llamadas es mayor en esta población que en la de *A. cisternasii* (ver capítulo 3). Esta diferencia en los rangos de las frecuencias disponibles en ambas especies puede explicar también por qué la selectividad de las hembra puede haber sido seleccionada más intensamente en *A. obstetricans* que en *A. cisternasii*.

Existe un gran interés en estudiar la relación entre las características de las llamadas de los machos y su tamaño corporal (p.e. DAVIES y HALLIDAY 1978; DYSON y PASSMORE 1988; MÁRQUEZ 1995a). Sin embargo, aunque se ha demostrado para algunos anuros, una relación significativa entre frecuencia de sintonización y

tamaño (RYAN 1988a; ZAKON y WILCZYNSKI 1988), hay muy pocos casos donde la dependencia tamaño-frecuencia de sintonización auditiva se haya relacionado con una tendencia del comportamiento individual tal como una preferencia de selección de pareja (RYAN *et al.* 1992). En nuestro estudio hemos podido observar que la frecuencia de los estímulos seleccionados por una hembra en el experimento "centrado en la media", no está correlacionada significativamente con el tamaño de la hembra. Este resultado sugiere que la correlación entre tamaño y frecuencia de sintonización auditiva no puede usarse para explicar el fenómeno de los apareamientos ordenados por tamaño que se han apuntado en algunos anuros (p.e. MÁRQUEZ y TEJEDO 1990) y en al menos una población alemana de *A. obstetricans* (S. Böll, com. pers.). Podría argumentarse que la baja repetibilidad encontrada en la elección de las hembras sugiere que las preferencias no son específicas para cada hembra. Sin embargo, pensamos que este resultado puede ser parcialmente explicado por la posición relativa y el orden de emisión de los altavoces que fueron variados aleatoriamente en todas las repeticiones de cada experimento. Si las hembras, en medios acústicos complejos tuviesen una menor precisión para localizar la fuente del sonido, un ligero error de localización del estímulo elegido supondría que se le asignase otro estímulo muy diferente, disminuyendo drásticamente la repetibilidad de su elección.

Combinando los resultados de ambos experimentos, podemos concluir que la selección hacia bajas frecuencias no es direccional-abierta (*open ended*) en ambas especies, y que los óptimos de frecuencias preferidas están dentro del rango de las frecuencias disponibles en cada población. Además, el hecho de que las hembras seleccionen preferentemente frecuencias por debajo de la media en el primer experimento y frecuencias por encima de la media en el experimento de "superestímulos" sugiere que sus funciones de preferencia no se ajustan al modelo psicofísico, ni al modelo unimodal relativo discutidos en LANDE (1981), ni a ningún otro modelo de preferencia direccional-abierta (*open ended*). Por el contrario parece que la función de preferencia responde al modelo unimodal absoluto (LANDE 1981) que ha sido adoptado en numerosas ocasiones para explicar las preferencias de las hembras en anuros y en otros animales (GERHARDT 1991, 1994b; RYAN y KEDDY-HECTOR 1992; RYAN *et al.* 1992). De acuerdo con otros autores (ver revisión en RYAN y KEDDY-HECTOR 1992), pensamos que la diferencia entre las preferencias de las hembras y la disponibilidad media de machos es inapreciable o inexistente, y de todos modos los valores preferidos se limitan al rango de los machos disponibles en la población. Este resultado es particularmente relevante si consideramos el hecho de que hay un considerable solapamiento en las características de las llamadas de los machos de las dos especies que pueden encontrarse en estricta simpatria (MÁRQUEZ y BOSCH 1997).

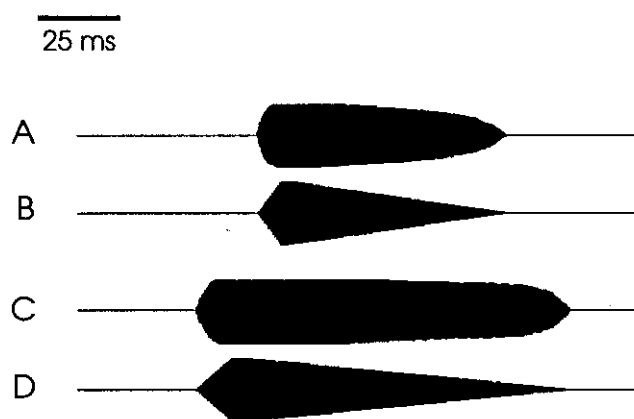
El sistema de apareamiento de *Alytes* cumple perfectamente el segundo criterio de SEARCY y ANDERSSON (1986) sobre la elección de pareja basada en sonidos: "el éxito de apareamiento del macho está correlacionado en la naturaleza con algún carácter". El tamaño del macho en este caso, reflejado por la frecuencia dominante de la llamada, se correlaciona con el éxito reproductor (MÁRQUEZ 1993). Por otro lado, el criterio 1 "las hembras deberían presentar una preferencia para ese carácter", puede considerarse demostrado por los experimentos de fonotaxis de dos altavoces (MÁRQUEZ 1995a, 1995b) aunque se confirma sólo parcialmente en ambientes acústicos complejos. Así, para explicar la ventaja reproductora de los machos de mayor tamaño hay que recurrir a otros factores además de la elección de pareja mediante las preferencias de las hembras. Entre estos factores estaría el hecho de que los machos responden de forma diferente a las llamadas de competidores de tamaños diferentes (ver capítulo 5).

Tabla 8.1.

	<i>A. obstetricans</i>	<i>A. cisternasii</i>
experimento "centrado en la media"		
Media + 2.25 SD	1314	1664
Media + 1.50 SD	1261	1599
Media + 0.75 SD	1209	1535
Media	1157	1471
Media - 0.75 SD	1104	1407
Media - 1.50 SD	1052	1343
Media - 2.25 SD	999	1279
experimento "superestímulos"		
Media - 2.25 SD	999	1279
Media - 3.00 SD	947	1215
Media - 3.75 SD	894	1151
Media - 4.50 SD	842	1086
Media - 5.25 SD	790	1022
Media - 6.00 SD	737	958
Media - 6.75 SD	685	894

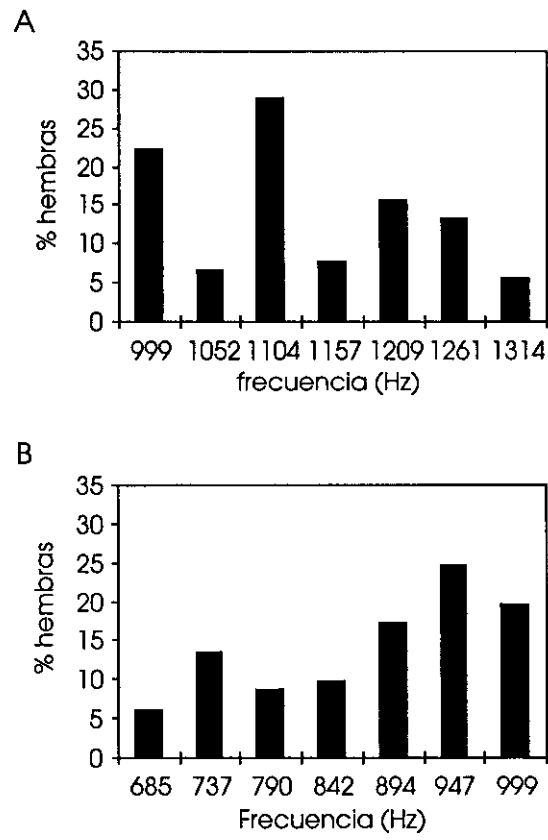
*Valores de las frecuencias empleadas en los dos experimentos
("centrado en la media" y "superestímulos") para cada especie.*

Figura 8.1.



- A) Oscilograma de una llamada natural de un macho de *A. obstetricans* a 15°C (duración 105 ms),*
*B) oscilograma de la llamada sintética utilizada en los experimentos para *A. obstetricans* (duración 105 ms),*
*C) Oscilograma de una llamada natural de un macho de *A. cisternasii* a 17°C (duración 157 ms),*
*D) oscilograma de la llamada sintética utilizada en los experimentos para *A. cisternasii* (duración 157 ms).*

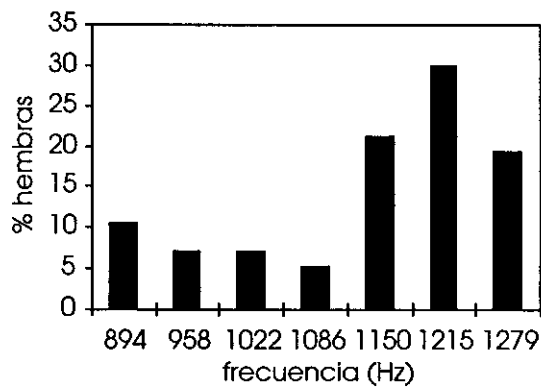
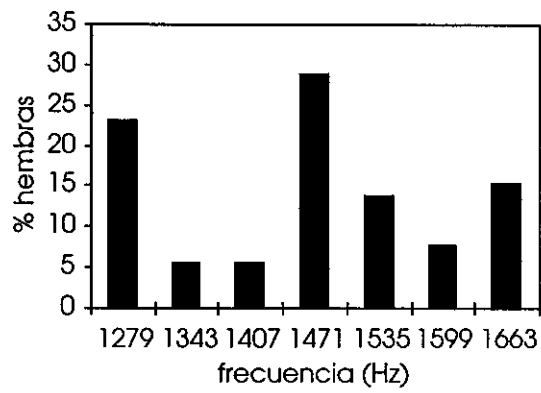
Figura 8.2.



Porcentaje medio de hembras atraídas por cada altavoz en *A. obstetricans*.

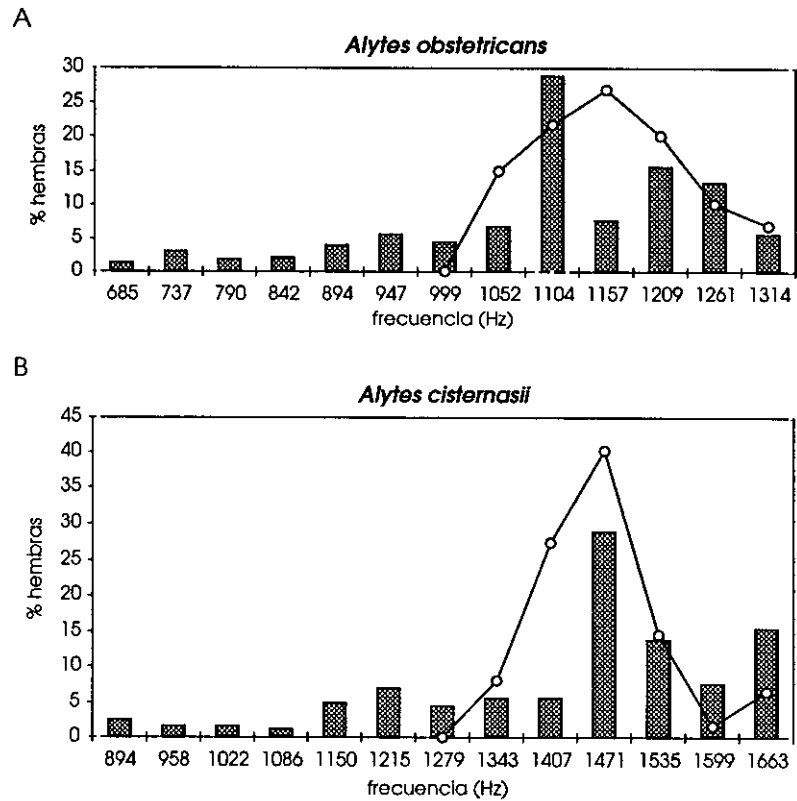
A) experimento "centrado en la media", B) experimento "superestimulos".

Figura 8.3.



*Porcentaje medio de hembras atraídas por cada altavoz en *A. cisternasi*.
A) experimento "centrado en la media", B) experimento "superestímulos".*

Figura 8.4.



Porcentaje medio de hembras atraídas por cada altavoz combinando ambos experimentos
 (se ha considerado que el total de hembras atraídas por cada altavoz en el experimento "superestimulos"
 se correspondería con el número de hembras atraídas por el altavoz de menor frecuencia en el experimento "centrado
 en la media") (los círculos blancos corresponden a la distribución de las llamadas de los machos)

A) *A. obstetricans*, B) *A. cisternasii*

Capítulo 9

ASIMETRÍA FLUCTUANTE DEL TÍMPANO,
TAMAÑO CORPORAL
Y SELECCIÓN DE PAREJA EN
A. OBSTETRICANS Y A. CISTERNASII

RESUMEN

*Aquí se plantea si la asimetría fluctuante en un elemento del oído externo de las hembras tiene relevancia en la comunicación acústica implicada en el proceso de selección sexual en *Alytes*. Se han estudiado los valores de asimetría fluctuante del tamaño del tímpano, así como la relación entre asimetría fluctuante y tamaño corporal con la precisión de localización de los estímulos en experimentos de fonotaxis con uno y dos altavoces. Se observan diferencias apreciables en el comportamiento de aproximación de las hembras al estímulo entre ambas especies, y también se encuentran diferencias según la complejidad del estímulo presentado. Las hembras de *A. cisternasii* emplean más tiempo en localizar los estímulos que las de *A. obstetricans*. En el experimento de dos altavoces la precisión de las hembras de *A. obstetricans* fue menor que con en el de un altavoz. Se observa un alto grado de correlación entre la asimetría fluctuante del tímpano y la precisión de localización del estímulo, así como entre el tamaño del animal y el tiempo empleado en localizar el estímulo. Por consiguiente, la asimetría fluctuante en el órgano receptor de la señal en las hembras puede jugar un papel importante en la selección sexual.*

INTRODUCCIÓN

Se denomina asimetría fluctuante (AF) a las variaciones aleatorias existentes en rasgos de ambos lados del cuerpo que normalmente presentan simetría bilateral. Esta forma de variación se atribuye a perturbaciones durante el desarrollo (SOULÉ 1982): ya que ambos lados de un rasgo con simetría bilateral son producidos por el mismo genoma, se asume que el grado de asimetría en un individuo refleja su habilidad para canalizar el desarrollo cuando se enfrenta con el estrés.

Recientemente la AF ha sido objeto de estudio para explicar los patrones no aleatorios en las preferencias de selección de pareja (p.e. MØLLER 1991, 1992). Se admite, en general, que una tasa baja de AF es un indicador de buena calidad genética y, por lo tanto las hembras deberían elegir machos con poca AF, ya sea evaluando directamente la AF como señal (MØLLER 1992) o evaluando señales correlacionadas con la AF (THORNHILL 1992).

Los machos de los anuros emiten vocalizaciones que son usadas por las hembras como señales indicativas de la calidad de los machos, ya que en numerosas especies se ha constatado una fuerte relación negativa entre el tamaño del macho y la frecuencia espectral de su llamada. Como hemos visto, en *Alytes*, los machos mayores emiten señales más graves que los machos pequeños, y las hembras seleccionan llamadas de baja frecuencia (MÁRQUEZ 1995a, 1995b). Las hembras de *Alytes* también cantan, lo que ha sido explicado como un mecanismo más para facilitar la localización de los machos (ya que éstos cantan en tierra y muchas veces en grietas o enterrados). MÁRQUEZ y VERRELL (1992) sugirieron que puede ser necesario un estímulo acústico por parte de la hembra para hacer emerger al macho de su escondite y facilitar el encuentro y posterior apareamiento que también tiene lugar en tierra.

El sistema de comunicación de los anuros ha sido empleado para analizar la predicción de que las hembras elegirían machos simétricos (RYAN *et al.* 1995), ya que según la hipótesis de "AF/buenos genes" la simetría es un indicador de calidad genética.

Por otro lado en los anuros, los mecanismos de localización de las llamadas de los machos por parte de las hembras, han sido estudiados desde varios puntos de vista (p. e. GERHARDT y RHEINLANDER 1982, EGGERMONT 1988), aunque hasta la fecha no se han estudiado las repercusiones de la AF de las hembras en los procesos de localización y selección de los machos.

El tímpano de los anuros constituye el primer nivel de recepción del sonido, y es una estructura claramente bilateral (EGGERMONT 1988) sujeta a variaciones entre ambos lados del cuerpo. El modelo de funcionamiento sugerido por EGGERMONT (1988) indica que el sistema de localización direccional de los anuros se asemeja a un "sistema de gradiente de presión-presión". En este sistema el efecto de una asimetría en la membrana externa (correspondiente al tímpano) sería multiplicado por el sistema de gradiente, con lo que el error de localización de una fuente de sonido sería mucho mayor.

En este capítulo se pretende determinar si se verifica la predicción de que, una menor tasa de AF en los órganos de las hembras implicados en los procesos de localización de pareja (en este caso el tamaño del tímpano), se correlaciona con un mayor grado de eficacia en dichos procesos de localización.

Si los machos constituyen un factor limitante o la diferencia entre la calidad de los padres potenciales es sustancial, las diferencias de eficacia de localización de las hembras pueden tener implicaciones directas en sus procesos de selección, convirtiéndose por consiguiente en una ventaja de unas hembras con respecto a otras de su especie en relación al número de apareamientos o a la calidad de los mismos. Ello sería, por definición, un factor de selección sexual en las hembras.

Además, en este capítulo analizaremos las diferencias en el comportamiento de aproximación entre las hembras de *A. obstetricans* y *A. cisternasii* a los machos cantores, así como las diferencias en la aproximación según la complejidad de los estímulos acústicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha medido el diámetro de los tímpanos derecho e izquierdo, así como la longitud hocico-cloaca (SVL) de 30 hembras grávidas de *A. obstetricans* de la población de la laguna Grande de Peñalara, y de 21 hembras grávidas de *A. cisternasii* de Mérida.

Se tomó tres veces el diámetro horizontal y el diámetro vertical de los tímpanos de forma no ordenada, con la ayuda de un calibre digital Mitutoyo CD-15 (precisión: 0.01 mm) o un calibre convencional DEMM (precisión: 0.05 mm). Se obtuvieron una media horizontal y otra media vertical para cada lado, y el valor de AF del tímpano resultó del valor absoluto de la media total del lado derecho menos la media total del lado izquierdo. Posteriormente esta variable fue transformada utilizando la transformación de Box-Cox: $x=(x+l)^m$ (siendo $l=0.002$ y $m=4$).

Se realizaron dos experimentos de fonotaxis convencionales como los descritos en otros capítulos, en los que se emplearon llamadas sintéticas generadas por ordenador. Para *A. obstetricans*, se construyeron llamadas de 100 ms de longitud (valor medio de la población), y de 1000 Hz para un supuesto macho de tamaño grande y 1300 Hz para un supuesto macho de tamaño pequeño (frecuencia media de la población ± 1.5 DE), ambos a una tasa de repetición de 49 llamadas/minuto. Para *A. cisternasii* se emplearon llamadas de 170 ms, y de 1364 y 1618 Hz, a 53.8 llamadas/minuto. Todos los valores empleados se encontraban dentro de los rangos de las poblaciones estudiadas.

Cada hembra se colocó en el centro de un recinto cuadrado de 1.8 m de lado con paredes de tela negra tras las cuales, y en lados opuestos se situaron uno o dos altavoces. Una luz tenue iluminaba el recinto, y todos los movimientos de cada animal se registraban con una cámara de video convencional situada en la vertical a 1.8 m de altura. Cada animal disponía de un tiempo máximo de 3 minutos para elegir un altavoz, si tocaba cualquier otro punto de la pared la prueba se consideraba nula. En el primer experimento de fonotaxis se utilizó sólo un altavoz que emitía el canto de un macho de tamaño grande (llamada grave); en el segundo experimento, cada hembra debía elegir entre el canto de un macho de pequeño tamaño y el canto de un macho grande, que eran emitidos alternativamente por dos altavoces situados en lados opuestos. El volumen de los cantos fue ajustado con un sonómetro Realistic Sound Pressure Meter a 70 dB en el centro del recinto.

Las grabaciones de video de los recorridos de las hembras se trataron digitalmente y se analizaron con la ayuda de la aplicación informática NIH Image 1.60 para Macintosh. Se obtuvieron así un total de 8 variables que resumían la trayectoria de las hembras hacia el altavoz. Estas variables se correlacionan negativamente con la precisión en la localización del sonido (mayor valor menor precisión):

- tiempo de reacción: tiempo transcurrido (en segundos) desde que la hembra se situaba en el centro del recinto hasta que iniciaba el primer movimiento,
- tiempo empleado: tiempo transcurrido (en segundos) desde el primer movimiento hasta tocar un altavoz,
- número de saltos: número de saltos de la hembra hasta llegar al altavoz,
- número de carreras: número de desplazamientos, sin saltar, hasta llegar al altavoz,
- longitud media de los saltos (en centímetros),
- longitud media de las carreras (en centímetros),
- distancia total recorrida (en centímetros) hasta alcanzar un altavoz,
- distancia final al altavoz: distancia (en centímetros) desde el centro del altavoz elegido hasta la posición final de la hembra, y
- Grave o Agudo (G-A): estímulo elegido en el experimento de dos altavoces,

Con todas estas variables de ambos experimentos, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) con objeto de reducir el número de variables sin perder información. La variable G-A fue linealizada asignando el valor 1 a la elección del altavoz grave y -1 a la del agudo (dada la conocida robustez de los ACP a la violación del supuesto de colinealidad). Posteriormente se realizaron correlaciones parciales entre los factores obtenidos en el ACP (con un eigenvalue mayor de 1), y la AF del tímpano y el SVL de las hembras.

RESULTADOS

Los coeficientes de repetibilidad de todas las medidas del tímpano analizadas son muy altos, entre 0.78 y 0.9 (*A. obstetricans* media: 0.815, *A. cisternasii* media: 0.845).

Como sucedía en el capítulo 4 con machos y hembras, en este caso existe un alto índice de correlación entre el tamaño del animal y el diámetro del tímpano en las hembras de *A. obstetricans* (n=30, r=0.57, p=0.001) y de *A. cisternasii* (n=21, r=0.78, p=0.0001).

Los valores medios del tímpano suelen ser mayores en el lado derecho que en el izquierdo (fig. 9.1, pág. 151) en ambas especies, lo que se traduce en una leve asimetría direccional hacia el lado derecho en *A. obstetricans* ($n=30$, $t=1.672$, $p=0.105$), y una marcada asimetría direccional en *A. cisternasii* ($n=21$, $t=4.498$, $p=0.0002$).

Los valores obtenidos de asimetría fluctuante del tímpano son extremadamente parecidos entre ambas especies (*A. obstetricans*: $n=30$, media=0.143, DE=0.11, rango=0.002-0.458; *A. cisternasii*: $n=21$, media=0.143, DE=0.12, rango=0.017-0.533), aunque son ligeramente distintos si se expresan en relación al tamaño del tímpano (*A. obstetricans*: 3.7%, *Alytes cisternasii*: 5.3%). No existe una correlación estadísticamente significativa entre el SVL y la asimetría timpánica en ninguna de las dos especies.

Los valores obtenidos para las variables analizadas en las grabaciones de video aparecen en la tabla 9.1 (pág. 147). El recorrido más corto y el recorrido más largo efectuados por las hembras en ambos experimentos, se representan en la fig. 9.2 (pág. 152).

Las diferencias obtenidas entre ambos experimentos para cada especie, y en el mismo experimento entre ambas especies, aparecen en la tabla 9.2 (pág. 148). En *A. obstetricans* sólo dos variables presentaron diferencias significativas entre ambos experimentos: la distancia total recorrida y la distancia final al altavoz, en ambos casos las distancias son mayores en el experimento de dos altavoces que en el de un altavoz. Sin embargo, cuando analizamos las diferencias entre especies para el mismo experimento, aparecen más diferencias significativas. Así, cuando sólo se presenta un estímulo, las hembras de *A. cisternasii* para acercarse al altavoz emplean, en comparación con *A. obstetricans*, más tiempo en comenzar a moverse, realizan más saltos y menos carreras, y además éstas son más cortas. En el experimento de dos altavoces, las hembras de *A. cisternasii* también esperan más tiempo antes de moverse, y más tiempo y un menor número de carreras en llegar al estímulo.

Con el fin de reducir el número de las variables analizadas sin perder información se realizó un ACP (tabla 9.3, pág. 149). Para *A. cisternasii* el ACP no se pudo realizar por falta de datos. El primer factor obtenido en el ACP está relacionado principalmente con el número de carreras en el experimento de un altavoz, y la distancia final al altavoz en el experimento de dos altavoces. El segundo factor, se relaciona fundamentalmente con el tiempo empleado en llegar al estímulo en el experimento de un altavoz, y el

tiempo hasta el primer movimiento y el número de carreras en el experimento de dos altavoces. Ambos factores de forma conjunta explican el 47.5% de la varianza de los datos originales.

En la tabla 9.4 (pág. 150) aparece un análisis de correlaciones parciales entre los factores obtenidos y la AF del tímpano por un lado, y el SVL por otro. El primer factor aparece altamente correlacionado con la asimetría en el tamaño del tímpano, mientras que el segundo factor presenta un alto grado de correlación con el SVL de las hembras. Es decir, a medida que aumenta la asimetría timpánica de las hembras, aumenta la distancia a la que éstas se quedan del altavoz elegido en el experimento de dos altavoces, y disminuye la longitud de las carreras en el experimento de un altavoz.

Por otra parte, a medida que aumenta el tamaño de las hembras, disminuye el tiempo de reacción en el primer experimento y el tiempo empleado en llegar al estímulo en el experimento de dos altavoces, además de aumentar la longitud de las carreras en el experimento de dos altavoces.

DISCUSIÓN

Los rangos de AF encontrados para el tamaño del tímpano son similares (corrigiendo por el tamaño del animal) al encontrado en *Acris crepitans* por RYAN *et al.* (1995). La direccionalidad encontrada en la asimetría timpánica en *A. cisternasii* es difícil de explicar, y tal vez sólo sea debida al menor número de individuos analizados.

Por observación directa del comportamiento de las hembras durante los experimentos de fonotaxis, en éste y en otros estudios similares, podemos relacionar los patrones de movimiento de la hembra con el grado de motivación en la elección del estímulo (RHEINLAENDER y KLUMP 1988). Así por ejemplo, el uso de desplazamientos largos sin saltar podría relacionarse con una localización más fina del sonido, ya que las hembras en distancias cercanas al estímulo suelen desplazarse con carreras en lugar de saltos. Además, las hembras que no terminaron la prueba (porque hicieron nulo al tocar las paredes del recinto lejos del altavoz) solían desplazarse normalmente saltando.

Como cabría esperar, parece que la localización del sonido por parte de las hembras se hace más complicada cuando existen varios estímulos, y en *A. obstetricans* al menos, en el proceso de elección las

hembras recorren más distancia hasta encontrar el altavoz y se quedan a mayor distancia de la fuente del sonido. Sin embargo, parece que el tiempo empleado, así como los patrones de movimiento que utilizan las hembras para acercarse al estímulo, no se ven afectados por la complejidad del medio acústico.

Las importantes diferencias encontradas entre ambas especies en muchas de las variables analizadas, como el menor número de carreras y el mayor número de saltos empleado por *A. obstetricans*, así como el menor tiempo empleado en acercarse a los altavoces, podrían estar relacionados por un lado con la anatomía funcional de las especies, y por otro simplemente con las condiciones ambientales durante los experimentos. La mayor longitud relativa de los miembros en *A. obstetricans* y su mayor gracilidad, así como el tipo de hábitat de esta población (superficie rocosa con muchos obstáculos), explicaría la tendencia de esta especie a desplazarse utilizando más saltos que carreras frente a *A. cisternasii* (mucho menos grácil y que en el área de estudio ocupa zonas con superficies más o menos despejadas). Por otro lado, aunque ambos experimentos se realizaron en el medio natural (o muy próximo a éste) en el mismo período en que los individuos de las poblaciones se encontraban apareándose, las condiciones climatológicas peculiares, podrían explicar las diferencias de motivación entre las hembras de ambas especies que se reflejarían en el tiempo en completar su elección.

En *A. obstetricans*, la ventaja encontrada de las hembras más grandes para localizar más rápidamente los altavoces (y supuestamente en la naturaleza para localizar más rápidamente a los machos, y por tanto poder elegir así a los machos grandes) podría explicar en parte el fenómeno de los apareamientos ordenados por tamaño encontrado en *Alytes* (MÁRQUEZ 1990).

Aunque existen multitud de trabajos en los que se analizan las repercusiones de la AF en la selección de pareja, en todos ellos sólo se estudia la AF de los órganos de los machos que pueden estar implicados en los procesos de selección por parte de las hembras. Hasta ahora, nunca se había estudiado las repercusiones de la AF en los órganos de las hembras encargados directamente de recibir las señales de los machos.

Por tanto en este caso, la selección natural constituiría un nexo con la selección sexual. Si asumimos que la AF es una fuente de variación producida por perturbaciones durante el desarrollo, una hembra cuyo desarrollo resultase en valores bajos de AF, dispondría de una ventaja sobre otras hembras en

relación al número o calidad de apareamientos; esto es la AF actuaría como un factor de selección sexual en las hembras.

A la luz de estos resultados, la AF del tímpano de los anuros podría ser un factor más que añadiese ruido en la expresión de las preferencias de las hembras en la naturaleza. Las hembras con mayor asimetría timpánica podrían tener más dificultad para localizar al macho preferido para el apareamiento en función de su llamada, y por lo tanto otras hembras cercanas podrían acceder más fácilmente a los machos preferidos. Además, si no se considera la asimetría timpánica, este factor distorsionante podría afectar a los resultados de los experimentos de fonotaxis con altavoces empleados habitualmente en el estudio de las preferencias de las hembras, aumentando en este tipo de experimentos la probabilidad de aceptar la hipótesis nula (no existe un criterio en la elección) cuando ésta es falsa (error tipo II).

Podemos concluir que, aunque sin duda existen otros factores (como el tamaño corporal analizado aquí) implicados en los procesos de localización de los machos de los anuros (y por tanto en los procesos de selección sexual), la AF del tímpano de las hembras juega un papel importante. Este factor podría complicar aún más el estudio de los complejos procesos de localización en anuros (p.e. RHEINLAENDER y KLUMP 1988). Este trabajo constituye la primera aproximación al estudio de la AF de los órganos receptores del mensaje en los procesos de comunicación y de su efecto en el marco de los procesos de selección sexual.

Tabla 9.1.

	<i>A. obstetricans</i>		<i>A. cisternasii</i>	
	G sólo	G-A	G sólo	G-A
Tiempo de reacción	14.57 (17.52) 0.06-68.60	15.53 (17.25) 1.71-82.64	50.38 (58.96) 2.82-234.26	65.75 (50.20) 0.48-161.64
Tiempo empleado	41.39 (16.60) 11.09-88.14	43.62 (20.61) 9.07-95.78	78.24 (78.62) 13.62-333.00	136.99 (89.49) 38.94-379.69
Nº saltos	4.46 (2.84) 0-12.00	5.60 (3.58) 0-12.00	7.29 (3.85) 4.00-20.00	9.13 (4.64) 3.00-20.00
Nº carreras	4.86 (4.30) 0-14.00	5.48 (5.67) 0-20.00	0.57 (1.09) 0-3.00	1.47 (1.55) 0-5.00
Longitud media saltos	12.77 (6.20) 0-21.58	11.31 (7.43) 0-28.81	14.84 (2.84) 10.45-21.56	14.70 (3.27) 9.50-19.37
Longitud media carreras	6.52 (3.06) 0-11.24	7.77 (3.08) 0-13.71	3.01 (5.04) 0-13.32	7.34 (6.77) 0-22.92
Distancia total	101.44 (8.56) 87.79-119.23	121.75 (46.70) 90.28-310.28	110.17 (40.25) 86.78-247.89	140.08 (44.87) 95.00-222.66
Distancia al altavoz	8.15 (6.72) 1.30-28.47	13.37 (10.35) 2.58-54.03	9.80 (8.11) 1.52-31.72	9.33 (6.53) 1.84-25.33

Media, desviación estándar (entre paréntesis) y rango de las variables analizadas en las grabaciones de video

(G sólo, experimento de un sólo altavoz que emitía una llamada grave;

G-A, experimento de dos altavoces que emitían una llamada grave y otra aguda).

Tabla 9.2.

	<i>A. obstetricans</i> (G sólo / G-A)			<i>A. cisternasii</i> (G sólo / G-A)		
	GL	t	p	GL	t	p
Tiempo de reacción	51	-0.20	0.842	28	-0.77	0.449
Tiempo empleado	51	-0.44	0.665	28	-1.91	0.066
Nº saltos	51	-1.29	0.204	27	-1.16	0.256
Nº carreras	51	-0.45	0.652	27	-1.79	0.085
Longitud media saltos	51	0.78	0.437	27	0.12	0.905
Longitud media carreras	51	-1.49	0.143	27	-1.95	0.062
Distancia total	51	-2.26	0.028	27	-1.89	0.070
Distancia al altavoz	51	-2.20	0.032	27	0.17	0.864

	G sólo (Ao / Ac)			G-A (Ao / Ac)		
	GL	t	p	GL	t	p
Tiempo de reacción	41	-3.00	0.005	38	-4.60	0.000
Tiempo empleado	41	-2.41	0.021	38	-5.04	0.000
Nº saltos	40	-2.69	0.010	38	-2.70	0.010
Nº carreras	40	3.65	0.001	38	2.67	0.011
Longitud media saltos	40	-1.18	0.245	38	-1.67	0.104
Longitud media carreras	40	2.81	0.008	38	0.28	0.785
Distancia total	40	-1.11	0.273	38	-1.22	0.230
Distancia al altavoz	40	-0.70	0.488	38	1.36	0.183

*Test de la t entre tipo de experimento y entre especies para todas las variables del video analizadas
(G sólo, experimento de un sólo altavoz que emita una llamada grave; G-A, experimento de dos altavoces que emitan una llamada grave y otra aguda; Ao, A. obstetricans; Ac, A. cisternasii).*

Tabla 9.3.

	Factor 1	Factor 2	Factor 3	Factor 4	Factor 5
Experimento G sólo					
Tiempo de reacción	0.26	-0.41	0.54	0.01	0.14
Tiempo empleado	-0.27	-0.54	-0.06	0.04	-0.64
N° saltos	-0.18	0.06	0.76	-0.24	0.39
N° carreras	0.34	0.14	-0.48	0.14	-0.71
Longitud media saltos	-0.03	-0.26	0.12	-0.13	0.84
Longitud media carreras	0.52	-0.05	-0.01	0.23	-0.48
Distancia total	0.40	0.16	0.09	-0.52	-0.02
Distancia al altavoz	0.06	-0.44	0.56	-0.22	-0.10
Experimento G-A					
Grave o Agudo	-0.25	0.00	-0.81	0.02	-0.08
Tiempo de reacción	-0.13	-0.89	0.06	-0.08	0.27
Tiempo empleado	0.07	0.12	0.06	0.77	-0.48
N° saltos	-0.25	0.06	0.61	0.24	0.51
N° carreras	0.20	0.28	-0.42	0.51	-0.57
Longitud media saltos	0.06	-0.27	0.18	-0.07	0.80
Longitud media carreras	-0.38	0.73	-0.10	0.22	-0.29
Distancia total	0.06	0.23	-0.11	0.87	-0.02
Distancia al altavoz	-0.89	0.06	-0.09	0.05	0.00
Eigenvalue	5.8	2.3	1.9	1.6	1.2
% varianza explicado	34.2	13.3	10.9	9.3	7.2

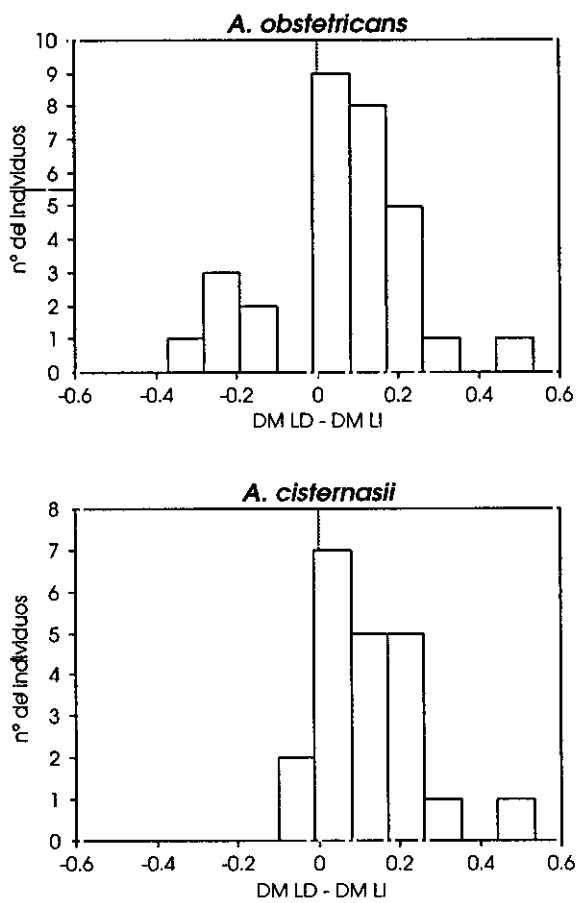
Resultado del análisis de componentes principales para las variables estudiadas en los dos experimentos de fonotaxis para A. obstetricans.

Tabla 9.4.

	A. F.		SVL	
	t	p	t	p
Factor 1	-4.66	0.000	0.46	0.653
Factor 2	-0.10	0.922	2.37	0.027
Factor 3	1.09	0.289	-1.08	0.293
Factor 4	0.07	0.948	-0.46	0.648
Factor 5	0.76	0.457	-1.14	0.267

*Correlaciones parciales entre cada factor obtenido en el ACP
y la asimetría fluctuante timpánica y el tamaño (SVL).*

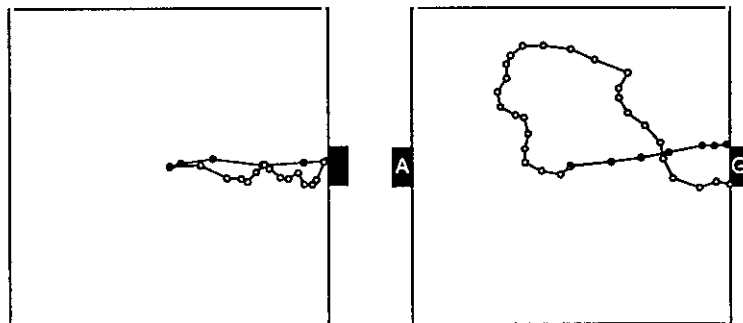
Figura 9.1.



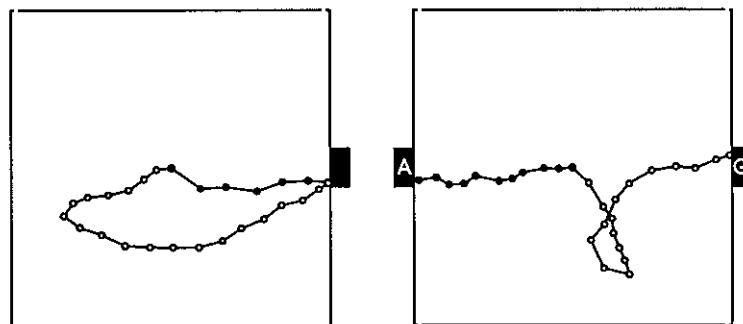
*Distribución de la asimetría del tamaño del tímpano en *A. obstetricans* y *A. cisternasii*
(D.M.L.D., diámetro medio del lado derecho; D.M.L.I., diámetro medio del lado izquierdo).*

Figura 9.2.

A. obstetricans



A. cisternasii



Recorrido más corto (círculos negros) y recorrido más largo (círculos blancos) efectuados por las hembras de ambas especies en los dos experimentos de fonotaxis realizados (a la izquierda experimento de un altavoz, a la derecha experimento de dos altavoces. A, estímulo agudo; G, estímulo grave).

Capítulo 10

CONCLUSIÓN

PERSPECTIVA HISTÓRICA DEL ESTUDIO DE ALYTES

Los primeros estudios sobre el género *Alytes* se remontan a finales del siglo XIX y principios del XX con los trabajos de DE L'ISLE (1873, 1876), LATASTE (1877, 1879), BOSCA (1879), HÉRON-ROYER (1886) y BOULENGER (1912). Estos estudios se limitaban a describir la biología reproductora de *Alytes* y su sistema de apareamiento, aunque en ocasiones se trataban de trabajos minuciosos que aportaron mucha información. En estos trabajos las vocalizaciones de los machos sólo eran comentadas de forma cualitativa.

Posteriormente, hacia los años setenta, comienzan a realizarse los primeros estudios cuantitativos, y en algunos de ellos se tratan las vocalizaciones (CAMBAR y MARTIN 1959; MAGNIN 1959; REMY 1959; SCHNEIDER 1966; HEINZMANN 1970), aunque la falta de medios técnicos hizo que estas primeras aproximaciones fuesen muy limitadas.

Pero fue en los años ochenta con los estudios de CRESPO y con la publicación del libro "*Història biològica del ferreret*", cuando el género *Alytes* se trató más en profundidad (CRESPO 1979, 1981a, 1981b, 1982a, 1982b, 1982c; CRESPO *et al.* 1984, 1989), incluyendo la caracterización y el análisis detallado de las vocalizaciones. También en estos años se realizaron otros trabajos sobre la filogenia, fenología, genética, morfología, reproducción, etc. (ARNITZEN y SZYMURA 1984; HERRERO 1984; SANCHÍZ 1984; VIEGAS y CRESPO 1985; RODRÍGUEZ-JIMÉNEZ 1984; READING y CLARKE 1988).

Ya en la década de los noventa se realizaron estudios precisos sobre la reproducción y la filogenia de las especies del género *Alytes* (RAXWORTHY 1990; MÁRQUEZ 1990, 1991, 1992; GARCÍA-PARÍS 1992; VERREL y BROWN 1993; ARNITZEN y GARCÍA-PARÍS 1995), aunque sólo en los últimos años las vocalizaciones se han estudiado de forma experimental (BUSH 1993, 1996; MÁRQUEZ 1995a, 1995b; MÁRQUEZ y BOSCH 1997).

Sin embargo, hasta la realización de este trabajo, en el estudio de sistema de apareamiento de *Alytes* nunca se había considerado el posible efecto de la competencia acústica entre machos, estudiándose sólo, y no con la profundidad adecuada, los mecanismos de selección de pareja de las hembras.

VENTAJAS Y LIMITACIONES DE ALYTES COMO MODELO PARA EL ESTUDIO DE LA EVOLUCIÓN DEL COMPORTAMIENTO REPRODUCTOR EN ANUROS

La idoneidad del estudio del comportamiento reproductor de *Alytes* dentro de los anuros, se basa en cuatro cuestiones principales:

1. Se trata de especies primitivas que, salvo en algunos estudios realizados con *Bombina*, hasta el trabajo de MÁRQUEZ (1990) nunca se había estudiado con profundidad el papel de las vocalizaciones en su comportamiento reproductor.

2. *Alytes* presenta llamadas de apareamiento extremadamente simples definidas por un número muy limitado de parámetros, lo que facilita su manipulación. Esto permite la experimentación con un gran control de los componentes de las llamadas, que lleva a obtener conclusiones claras.

3. La dualidad de sus hábitos reproductores (prolongado *vs.* explosivo) entre poblaciones, según su localización en la Península Ibérica, proporciona un excelente laboratorio natural para estudiar hipótesis sobre estrategias reproductoras.

4. Debido al esfuerzo de estudio de este género en los últimos años (READING y CLARKE 1988; MÁRQUEZ 1990; ROSA *et al.* 1990; RAXWORTHY 1990; MÁRQUEZ y VERRELL 1991; GARCÍA-PARÍS 1992; MÁRQUEZ 1992, 1993; BUSH 1993; VERRELL y BROWN 1993; ARNTZEN y GARCÍA-PARÍS 1995; GARCÍA-PARÍS 1995; MÁRQUEZ 1995a, 1995b; BUSH *et al.* 1996; MÁRQUEZ 1996; MÁRQUEZ y BOSCH 1996, 1997), su filogenia y ecología se conocen muy bien, y probablemente se trate en la actualidad del género europeo en el que mejor se comprende el papel de las vocalizaciones en su comportamiento reproductor.

Como ya hemos señalado, aunque el sistema de apareamiento de varias especies de anuros se conoce en la actualidad relativamente bien, su estudio en el caso de *Alytes*, puede aportar una visión de los mecanismos que imperan en este proceso en especies primitivas. De esta forma, junto con los amplios conocimientos adquiridos en especies más evolucionadas de hílidos y leptodactílidos, podremos conocer mejor la evolución de la comunicación en los anuros.

Por otro lado, el género *Alytes* presenta peculiaridades que hacen complicado su estudio en las poblaciones naturales. En primer lugar, al tratarse de especies que cantan y se aparean en tierra, los individuos se pueden distribuir por extensiones mucho más amplias que en el caso de otros anuros que acuden a charcas o puntos de agua para reproducirse. Además, al encontrarse en tierra y presentar un tamaño reducido, así como una coloración críptica, la localización de los ejemplares (sobre todo de las hembras) puede resultar muy difícil. Esto es especialmente importante en el caso de las hembras, ya que como hemos visto, es necesario conseguir un gran número de ejemplares grávidos para utilizarlos en experimentos de fonotaxis. Además, en poblaciones con reproducción explosiva, la extremada brevedad del período reproductor, hace que la captura de hembras con huevos sea realmente complicada (en este escenario la mayor parte de las hembras de la población podrían aparearse el primer día de la estación, coincidiendo con las primeras lluvias). Por otro lado, en poblaciones con reproducción prolongada, la larga duración del período reproductor (que puede abarcar casi todo el año, como en el caso de *A. cisternasii* en Madrid), así como la dispersión de los ejemplares por amplias zonas, hacen que la captura de un número relevante de ejemplares sea muy difícil. En el caso de *A. obstetricans* además, sus hábitos cavernícolas, y en el de *A. cisternasii* sus hábitos excavadores, hacen que la captura de individuos cantando enterrados o dentro de grietas sea complicada.

Otra dificultad, como vimos en el capítulo 4, es el escaso dimorfismo sexual que presenta este género, lo que en determinadas circunstancias puede suponer la no determinación del sexo de un individuo que nos interese. Afortunadamente, como hemos visto, esto puede solucionarse con el uso de funciones discriminantes como las que aparecen en el capítulo 4.

Otro problema añadido en los trabajos de campo, es la dificultad del seguimiento de un individuo concreto a lo largo de todo el período reproductor. La falta de un método eficaz de marcaje, que no sea traumático (como la amputación de falanges), que se mantenga durante muchos días, y que permita el marcaje de cientos de individuos (debido al tamaño extremo de algunas poblaciones y a el bajo índice de recaptura), hace que el

seguimiento de los individuos en el campo, desde que comienzan a cantar hasta que liberan la puesta en el agua, sea poco menos que imposible.

CONCLUSIONES GENERALES

Considerando todos los resultados obtenidos en los diferentes capítulos, podemos responder al objetivo planteado de *determinar la existencia de la competencia acústica entre machos* de la siguiente forma:

1. en efecto existen fenómenos de competencia acústica entre machos e interacciones acústicas macho-macho en ambas especies de *Alytes* estudiadas. La competencia acústica entre machos se expresa como un incremento en el esfuerzo de emisión de llamadas, permaneciendo inalterado el resto de las características de la llamada. Las interacciones acústicas entre machos se manifiestan en un ajuste temporal de las llamadas,

2. dichos fenómenos de competencia e interacciones acústicas entre machos afectan a las preferencias de las hembras, por lo que las conclusiones obtenidas sobre el sistema de apareamiento de *Alytes* basadas sólo en el estudio de selección de pareja deben de ser tomadas con precaución. Además, estos mecanismos pueden servir para explicar fenómenos como el apareamiento ordenado por tamaños.

Como resultado de este trabajo se pueden obtener otras conclusiones importantes:

3. el fenómeno de competencia acústica entre machos parece más intenso en *A. cisternasii*, donde además, la elección de pareja de la hembra podría tener un papel menos importante al no poder expresarse,

4. algunas características de las llamadas (como relación temperatura-duración) pueden usarse como eficaces marcadores del estatus taxonómico de las poblaciones,

5. el problema del escaso dimorfismo sexual en *Alytes* puede ser solventado mediante el uso de técnicas matemáticas que permiten reconocer a ambos sexos en cualquier circunstancia,

6. las preferencias de las hembras por llamadas de baja frecuencia, se encuentran dentro del rango de las llamadas disponibles en la naturaleza, además dichas preferencias se mantienen en medios acústicos complejos por lo menos en *A. obstetricans*,

7. pueden existir otros factores, además de la competencia acústica y las interacciones, que jueguen un papel importante en los procesos de selección de las hembras, como la asimetría fluctuante de sus órganos auditivos.

FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN SOBRE EL SISTEMA DE APAREAMIENTO DE ALYTES

A lo largo de todo este repaso del conocimiento del sistema de apareamiento de *Alytes*, hemos podido comprobar que aún quedan muchas cuestiones por resolver. Los puntos concretos que pensamos que deberían desarrollarse en el futuro, y en los que estamos trabajando en la actualidad son:

1. Profundizar en el estudio del comportamiento de machos y hembras frente a las vocalizaciones, mediante el uso de playback interactivos. El uso de este tipo de experimentos, que hemos iniciado aquí, permite plantear cuestiones sobre respuestas relativas de los individuos frente a parámetros concretos de las vocalizaciones. Por ejemplo, sería de gran utilidad la realización de experimentos de playback con estímulos de frecuencias relativas al sujeto analizado. Esto implica el análisis en tiempo real, de las llamadas del individuo analizado, así como la construcción a medida de los estímulos y su emisión. También, serían importantes para entender mejor el comportamiento de las hembras en los instantes finales del proceso de selección de los machos, la realización de experimentos de playback interactivos que incluyeran las vocalizaciones de las hembras.

2. Estudio a largo plazo de individuos concretos, desde el inicio del período de canto, hasta incluso el final del período reproductor de su descendencia. Esto es, el estudio de la eficacia biológica o *fitness* de un individuo, que abarcaría varios años de seguimiento. En este sentido, sería de gran interés realizar estudios sobre la heredabilidad de los caracteres de las llamadas que no se conoce en la actualidad. Este tipo de estudios a largo plazo, debería incluir el análisis de variables de los machos como: el gasto energético de las llamadas, el esfuerzo de llamada a lo largo de toda la estación reproductora, el número y características de los apareamientos conseguidos, el tamaño y éxito de eclosión de la puesta, la viabilidad y supervivencia de las larvas, y a mucho más largo plazo, el éxito reproductor de la descendencia.

Este tipo de estudios a largo plazo, como es lógico, sólo podría llevarse a cabo con un reducido número de ejemplares conocidos, y en condiciones de pseudocautividad en un recinto controlado de fácil acceso.

3. Otro gran tipo de estudios de enorme utilidad, que nos proponemos realizar en los próximos años, son los estudios neurofisiológicos. Este tipo de estudios incluirían la realización de curvas de sintonización auditiva en función de la frecuencia, que como ya hemos visto, constituyen la otra gran posibilidad de analizar el efecto de las llamadas en el comportamiento de los individuos. Otro puntos de estudio, como la relación tamaño corporal-frecuencia de sintonización, o la posible divergencia en la sintonización de los dos sexos, servirían para responder preguntas que han quedado aquí como meras especulaciones.

El estudio de las respuestas neuronales frente a la temporalidad de las llamadas, y al solapamiento de éstas, constituye un campo nuevo en la investigación neuroetológica que podría resultar de gran interés.

La integración de los conocimientos del comportamiento de los individuos frente a las vocalizaciones, junto con el conocimiento de los mecanismos neuronales, aportarían una visión de conjunto necesaria para entender de forma más profunda los mecanismos involucrados en la comunicación.

4. Por último, puede ser importante considerar otros factores que podrían estar involucrados en los procesos de competencia entre machos o selección de pareja de las hembras, y que no han sido investigados. Tal es el caso del fenómeno de la asimetría fluctuante de los órganos implicados en el proceso de recepción (o emisión) del mensaje, que hemos tratado en parte en el capítulo 9.

Otros procesos, como el poder de propagación acústica de las señales en función de las características del macho, del hábitat, o más interesante aún, de la posición espacial de los machos en el medio, deberían ser analizados en profundidad pese a las dificultades técnicas que plantean.

*Los conocimientos adquiridos hasta la fecha, junto con las investigaciones futuras que se están realizando, hacen del género *Alytes* no sólo un ejemplo zoológico de investigación morfológica, genética, ecológica y experimental, sino un excelente modelo experimental. Este modelo experimental puede ser una útil herramienta no sólo para demostrar hipótesis sobre el papel del comportamiento en un marco evolutivo, sino incluso para demostrar hipótesis evolutivas de gran relevancia.*

Capítulo 11

BIBLIOGRAFÍA

- ALEXANDER, R.D., 1975. Natural selection and specialized chorusing behavior in acoustical insects. En: *Insects, Science and Society* (D. PIMENTEL, ed.), pp. 35-77. New York: Academic Press.
- ARAK, A., 1983a. Vocal interactions, call matching and territoriality in a Sri Lankan treefrog, *Phyllautus leucorhinus* (Rhacophoridae). *Anim. Behav.*, 31: 292-302.
- ARAK, A., 1983b. Male-male competition and mate choice in anuran amphibians. En: *Mate Choice* (P. BATESON, ed.), pp. 181-210. Cambridge: Cambridge University Press.
- ARAK, A., 1988. Female mate selection in the natterjack toad: active choice or passive attraction? *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 22: 317-327.
- ARNOLD, S.J., 1983. Sexual selection: the interface between theory and empiricism. En: *Mate Choice* (P. BATESON, ed.), pp. 67-107. Cambridge: Cambridge University Press.
- ARNTZEN, J.W. y SZYMURA, J.M., 1984. Genetic differentiation between African and European midwife toads (*Alytes*, Discoglossidae). *Bijdr. Dierk.*, 54: 157-162.
- ARNTZEN, J.W. y GARCÍA-PARÍS, M., 1995. Morphological and allozyme studies of midwife toads (Genus *Alytes*), including the description of two new taxa from Spain. *Bijdr. Dierk.*, 65: 5-34.
- BACKWELL, P.Y.R. y JENNIONS, M.D., 1993. Mate choice in the Neotropical frog, *Hyla ebracata*: sexual selection, mate recognition and signal selection. *Anim. Behav.*, 45: 1248-1250.
- BATEMAN, A.J., 1948. Intra-sexual selection in *Drosophila*. *Heredity*, 2: 349-368.
- BOGERT, C.M., 1960. The influence of sound on amphibians and reptiles. En: *Animal Sound and Communication* (W.E. LANYON. y W.N. TAVOLGA, eds.), pp. 137-320. Washington: American Institute of Biological Science.
- BOSCA, E., 1879. *Alytes cisternasii*, descripción de un nuevo batracio de la fauna española. *An. Soc. Esp. Hist. Nat.*, 8: 217-227.
- BOSCH, J., RIVA, I. DE LA y MÁRQUEZ, R., 1996. The calls of *Lysapsus limellus* and *Pseudis paradoxa* (Amphibia, Anura, Pseudidae). *Folia Zool.*, 45: 49-55.
- BOULENGER, G.A., 1912. Observations sur l'accouchement et la ponte de l'alyte accoucheur "*Alytes obstetricans*". *Bull. Acad. R. Sci. Lett. Beaux Arts Belgique*: 570-579.
- BOWKER, R.G. y BOWKER, M.H., 1979. Abundance and distribution of anurans in a Kenyan pond. *Copeia*, 1979: 278-285.
- BRUCE, H.M., 1959. An exteroceptive block to pregnancy in the mouse. *Nature*, 184: 105.
- BRUSH, J.S. y NARINS, P.M., 1989. Chorus dynamics of a neotropical amphibian assemblage: comparison of computer simulation and natural behaviour. *Anim. Behav.*, 37: 33-44.
- BUSH, S.L., 1993. *Courtship and male parental care in the Mallorcan midwife toad Alytes muletensis*. Tesis Doctoral. University of East Anglia, Norwich.
- BUSH, S.L., DYSON, M.L. y HALLIDAY, T.R., 1996. Selective phonotaxis by males in the majorcan midwife toad. *Proc. R. Soc. London B*, 263: 913-917.
- CAMBAR, R. y MARTIN, S., 1959. Table chronologique du développement embryonnaire et larvaire du crapaud accoucheur (*Alytes obstetricans* Laur.). *Act. Soc. Linn. Bordeaux*, 98: 3-33.
- CAPRANICA, R.R., 1992. Untuning of the tuning curve: is it time? *Semin. Neurosci.*, 4: 401-408.
- CAPRANICA, R.R. y MOFFAT, A.J.M., 1983. Neurobehavioral correlates of sound communication in anurans. En: *Advances in Vertebrate Neuroethology* (J.P. EWERT, R.R. CAPRANICA. y D.J. INGLE, eds.), pp. 701-730. New York: Plenum.
- CLUTTON-BROCK, T.H., ALBON, S.D., GIBSON, R.M., y GUINNESS, F.E., 1979. The logical stag: adaptative aspects of fighting in red deer (*Cervus elaphus* L.). *Anim. Behav.*, 27: 211-225.
- COCROFT, R.B. y RYAN, M.J., 1995. Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs. *Anim. Behav.*, 49: 283-303.
- CRESPO, E.G., 1979. *Contribuição para o conhecimento da biología das espécies ibéricas de Alytes, Alytes obstetricans boscai (Lataste 1879) e Alytes cisternasii (Boscá 1879) (Amphibia Discoglossidae). A problemática da especiação de Alytes cisternasii*. Tesis Doctoral. Universidade de Lisboa, Lisboa.
- CRESPO, E.G., 1981a. Contribuição para o conhecimento da biología das espécies ibéricas de *Alytes, Alytes obstetricans boscai* (Lataste 1879) e *Alytes cisternasii* (Boscá 1879) (Amphibia Discoglossidae). Emissões sonoras. *Arq. Mus. Bocage. Sér. C*, 1: 57-75.
- CRESPO, E.G., 1981b. Contribuição para o conhecimento da biología das espécies Ibéricas de *Alytes, Alytes obstetricans boscai* (Lataste 1879) e *Alytes cisternasii* (Boscá 1879) (Amphibia Discoglossidae). Tegumento (histologia e polipeptidos activos). *Arq. Mus. Bocage. Sér. C*, 2: 33-56
- CRESPO, E.G., 1982a. Contribuição para o conhecimento da biología das espécies ibéricas de *Alytes, Alytes obstetricans boscai* (Lataste 1879) e *Alytes cisternasii* (Boscá 1879) (Amphibia Discoglossidae). Morfologia dos adultos e dos girinos. *Arq. Mus. Bocage. Sér. C*, 1: 255-311.
- CRESPO, E.G., 1982b. Contribuição para o conhecimento da biología das espécies Ibéricas de *Alytes, Alytes obstetricans Boscai* (Lataste 1879) e *Alytes cisternasii* (Boscá 1879) (Amphibia Discoglossidae). Ovos, posturas (Epoças de reprodução). *Arq. Mus. Bocage. Sér. A*, 1: 453-462.
- CRESPO, E.G., 1982c. Contribuição para o conhecimento da biología das espécies Ibéricas de *Alytes, Alytes obstetricans boscai* (Lataste 1879) e *Alytes cisternasii* (Boscá 1879) (Amphibia Discoglossidae). Ciclos espermatogénicos e ovários. *Arq. Mus. Bocage. Sér. A*, 1: 353-368.
- CRESPO, E.G., VIEGAS, A.M., y VICENTE, L.A., 1984. Sur quelques caractéristiques biochimiques de *Baleaphryne muletensis*. En: *Història biològica del ferreret (Life history of the Mallorcan midwife toad)* (H. HEMMER y J.A. ALCOVER, eds.), pp. 199-212. Mallorca: Moll.
- CRESPO, E.G., OLIVEIRA, M.E., ROSA, H.C. y PAILLETTE, M., 1989. Mating calls of the Iberian midwife toads *Alytes obstetricans boscai* and *Alytes cisternasii*. *Bioacoustics*, 2: 1-9.
- DABELSTEEN, T., 1992. Interactive playback: a finely tuned response. En: *Playback and Studies of Animal Communication* (P.K. MCGREGOR, ed.), pp. 97-109. New York: Plenum.
- DARWIN, C., 1871. *The Descent of Man and Selection in Relation to Sex*. New York: Modern Library.

- DAVIES, N.B. y HALLIDAY, T.R., 1978. Deep croaks and fighting assessment in toads *Bufo bufo*. *Nature*, 274: 683-685.
- DAVIS, M.S., 1988. Acoustically mediated neighbor recognition in the North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 21: 185-190.
- DOHERTY, J.A. y GERHARDT, H.C., 1984. Evolutionary and neurobiological implications of selective phonotaxis in the spring peeper (*Hyla crucifer*). *Anim. Behav.*, 32: 875-881.
- DREWRY, G.E. y RAND, A.S., 1983. Characteristics of an acoustic community: Puerto Rican frogs of the genus *Eleutherodactylus*. *Copeia*, 1983: 941-953.
- DUELLMAN, W.E., 1967. Social organization in the mating calls of some neotropical anurans. *Am. Midl. Nat.*, 77: 156-163.
- DUELLMAN, W.E. y PYLES, R.A., 1983. Acoustic resource partitioning in anuran communities. *Copeia*, 1983: 639-649.
- DUELLMAN, W.E. y TRUEB, L., 1986. *Biology of Amphibians*. New York: McGraw-Hill.
- DYSON, M.L. y PASSMORE, N.I., 1988. Two-choice phonotaxis in *Hyperolius marmoratus* (Anura: Hyperoliidae): the effect of temporal variation in presented stimuli. *Anim. Behav.*, 36: 648-652.
- DYSON, M.L. y PASSMORE, N.I., 1992. Effect of internale spacing on female frequency preferences in the painted ree frog. *Copeia*, 1992: 1111-1114.
- EGGERMONT, J.J., 1988. Mechanisms of sound localization in anurans. En: *The Evolution of the Amphibian Auditory System* (B. FRITZSCH, M.J. RYAN, W. WILCZYNSKI, T.E. HETHERINGTON y W. WALKOWIAK, eds.), pp. 307-336. New York: John Wiley & Sons.
- EHRET, G. y GERHARDT, H.C., 1980. Auditory masking and effects of noise on responses of the green treefrog (*Hyla cinerea*) to synthetic mating calls. *J. Comp. Physiol. A*, 141: 13-18.
- FELLERS, G.M., 1979. Aggression, territoriality, and mating behaviour, in North American treefrogs. *Anim. Behav.*, 27: 107-119.
- FISHER, R.A., 1930. *The Genetical Theory of Natural Selection*. Oxford: Clarendon Press.
- FORD, L.S. y CANNATELLA, D.C., 1993. The major clades of frogs. *Herpetol. Monogr.*, 7: 94-117.
- FOSTER, W.A., 1967. Chorus structure and vocal response in the Pacific treefrog, *Hyla regilla*. *Herpetologica*, 23: 100-104.
- GARCÍA-PARÍS, M., 1992. *Aportaciones al conocimiento de la evolución del género Alytes (Anura, Discoglossidae)*. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid, Madrid.
- GARCÍA-PARÍS, M., 1995. Variabilidad genética y distribución geográfica de *Alytes obstetricans almogavarii* en España. *Rev. Esp. Herpetol.*, 9: 1-144.
- GERHARDT, H.C., 1974a. The vocalizations of some hybrid treefrogs: acoustic and behavioral analyses. *Behaviour*, 49: 130-151.
- GERHARDT, H.C., 1974b. Behavioral isolation of the treefrog *Hyla cinerea* and *Hyla andersonii*. *Am. Midl. Nat.*, 91: 424-433.
- GERHARDT, H.C., 1975. Sound pressure levels and radiation patterns of the vocalizations of some North American frogs and toads. *J. Comp. Physiol. A*, 102: 1-12.
- GERHARDT, H.C., 1978a. Temperature coupling in the vocal communication system of the grey treefrog (*Hyla versicolor*). *Science*, 199: 992-994.
- GERHARDT, H.C., 1978b. Mating call recognition in the green treefrog (*Hyla cinerea*). The significance of some fine-temporal properties. *J. Exp. Biol.*, 74: 59-73.
- GERHARDT, H.C., 1981. Mating call recognition in the green treefrog (*Hyla cinerea*). Importance of two frequency bands as function of sound pressure level. *J. Comp. Physiol.*, 144: 9-16.
- GERHARDT, H.C., 1982. Sound pattern recognition in some North American treefrogs (Anura, Hylidae). Implications for mate choice. *Am. Zool.*, 22: 581-595.
- GERHARDT, H.C., 1987. Evolutionary and neurobiological implications of selective phonotaxis in the greenfrog, *Hyla cinerea*. *Anim. Behav.*, 35: 1479-1489.
- GERHARDT, H.C., 1991. Female mate choice in treefrogs: static and dynamic acoustic criteria. *Anim. Behav.*, 42: 615-636.
- GERHARDT, H.C., 1992. Conducting playback experiments and interpreting their results. En: *Playback and Studies of Animal Communication* (P.K. MCGREGOR, ed.), pp. 59-77. New York: Plenum Press.
- GERHARDT, H.C., 1994a. The evolution of vocalizations in frogs and toads. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 25: 293-324.
- GERHARDT, H.C., 1994b. Selective responsiveness to long-range acoustic signals in insects and anurans. *Am. Zool.*, 34: 706-714.
- GERHARDT, H.C. y DOHERTY, J.A., 1988. Acoustic communication in the gray treefrog, *Hyla versicolor*: evolutionary and neurobiological implications. *J. Comp. Physiol. A*, 162: 261-278.
- GERHARDT, H.C., GUTTMAN, S.D. y KARLIN, A.A., 1980. Natural hybrids between *Hyla cinerea* and *Hyla gratiosa*: morphology, vocalization and electrophoretic analysis. *Copeia*, 1980: 577-584.
- GERHARDT, H.C. y KLUMP, G.M., 1988. Masking of acoustic signals by the chorus background noise in the green tree frog: a limitation on mate choice. *Anim. Behav.*, 36: 1247-1249.
- GERHARDT, H.C., MARGARET, B.P., BARNETT, L. y TORKE, K.G., 1994. Hybridization in the diploid-tetraploid treefrogs *Hyla chrysoscelis* and *Hyla versicolor*. *Copeia*, 1994: 51-59.
- GERHARDT, H.C. y MUDRY, K.M., 1980. Temperature effects on frequency preferences and mating call frequencies in the green treefrog *Hyla cinerea* (Anura, Hylidae). *J. Comp. Physiol.*, 137: 1-6.
- GERHARDT, H.C. y RHEINLANDER, J., 1982. Localization of an elevated sound source by the green treefrog. *Science*, 217: 663-664.
- GERHARDT, H.C. y SCHWARTZ, J.J., 1994. Interspecific interactions and species recognition. En: *Amphibian Biology Vol. 2: Social Communication* (H. HEATWOLE y B.K. SULLIVAN, eds.), pp. 603-632. Sydney: Surrey Beattley & Son.
- GIVEN, M.F., 1993. Vocal interactions in *Bufo woodhousii fowleri*. *J. Herpetol.*, 27: 447-452.
- GOIN, C.J., 1949. The peep order in peepers; a swamp water serenade. *Q. J. Florida Acad. Sci.*, 11: 59-61.
- GRAFE, T.U., 1995. Graded aggressive calls in the african painted reed frog *Hyperolius marmoratus* (Hyperoliidae). *Ethology*, 101: 67-81.

- GRAFE, T.U., 1996. The function of call alternation in the African reed frog (*Hyperolius marmoratus*): precise call timing prevents auditory masking. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 38: 148-158.
- GREEN, A.J., 1990. Determinants of chorus participation and the effects of size, weight and competition on advertisement calling in the tungara frog, *Physalaemus pustulosus* (Leptodactylidae). *Anim. Behav.*, 39: 620-638.
- GREENFIELD, M.D., 1994. Cooperation and conflict in the evolution of signal interactions. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 25: 97-126.
- GROSS, M.R., 1985. Disruptive selection for alternative life histories in salmon. *Nature*, 313: 47-48.
- HALLIDAY, T.R., 1980. *Sexual strategy*. Oxford: Oxford University Press.
- HAMILTON, W.D. y ZUK, M., 1982. Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science*, 218: 384-387.
- HAUSFATER, G., GERHARDT, H.C. y KLUMP, G., 1990. Parasites and mate choice in gray treefrog, *Hyla versicolor*. *Am. Zool.*, 30: 299-311.
- HEINZMANN, U., 1970. Untersuchungen zur Bio-Akustik und Ökologie der Geburtshelferkröte. *Oecologia*, 5: 19-55.
- HÉRON-ROYER, 1886. Sur la reproduction de l'albinisme par voie héréditaire chez l'alyte accoucheur et sur l'accouplement de ce batracien. *Bull. Soc. Zool. France*, 11: 671-679.
- HERRERO, P., 1984. Estudios citogenéticos en *Baleapbryne muletensis*. En: *Història biològica del ferreret (Life history of the Mallorcan midwife toad)* (H. HEMMER y J.A. ALCOVER, eds.), pp. 223-230. Mallorca: Moll.
- HEYER, W.R., 1976. Studies in larval habitat partitioning. *Smithson Contrib. Zool.*, 29: 1-85.
- HEYER, W.R., 1978. Systematics of the *fuscus* group of the frog genus *Leptodactylus* (Amphibia, Leptodactylidae). *Sci. Bull. Los Angeles Co. Mus. Nat. Hist.*, 29: 1-85.
- IBÁÑEZ, R., 1993. Female phonotaxis and call overlap in the neotropical glassfrog *Centrolenella granulosa*. *Copeia*, 1993: 846-850.
- ISLE, A. DE L', 1873. Mémoire sur l'alyte accoucheur et son mode d'accouplement. *Ann. Sci. Nat. (5ème Sér.) (Zool. Paléontol.)*, 17(13): 1-12.
- ISLE, A. DE L', 1876. Mémoire sur les moeurs et l'accouplement de l'*Alytes obstetricans*. *Ann. Sci. Nat. (6ème Sér.) (Zool. Paléontol.)*, 3: 1-51.
- JENNIONS, M.D. y BACKWELL, P.Y.R., 1992. Chorus size influences on the anti-predator response of a Neotropical frog. *Anim. Behav.*, 44: 990-992.
- KELLEY, D.B. y GORLUCK, D.L., 1990. Sexual selection and the nervous system. *Bioscience*, 40: 275-283.
- KIRKPATRICK, M. y RYAN, M.J., 1991. The evolution of mating preferences and the paradox of the lek. *Nature*, 350: 33-38.
- KLUMP, G.M. y GERHARDT, H.C., 1987. Use of non-arbitrary acoustic criteria in mate choice by female tree frogs. *Nature*, 326: 286-288.
- KLUMP, G.M. y GERHARDT, H.C., 1992. Mechanisms and function of call-timing in male-male interactions in frogs. En: *Playback and Studies of Animal Communication* (P.K. MCGREGOR, ed.), pp. 153-174. New York: Plenum.
- LANDE, R., 1981. Models of speciation by sexual selection on polygenic traits. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78: 3721-3725.
- LANDE, R. y ARNOLD, S.J., 1983. The measurement of selection on correlated characters. *Evolution*, 37: 1210-1226.
- LATASTE, F., 1877. Mémoire sur les brosses copulatrices des batraciens anoures. *Ann. Sci. Nat.*, Art 10.
- LATASTE, F., 1879. Sur une nouvelle forme de batracien anoure d'Europe. *Rev. Int. Sci.*, 4: 543-545.
- LITTLEJOHN, M.J., 1977. Long-range acoustic communication in anurans: an integrated and evolutionary approach. En: *The Reproductive Biology of Amphibians* (D.H. TAYLOR y S.I. GUTTMAN, eds.), pp. 263-294. New York/London: Plenum.
- LITTLEJOHN, M.J., 1988. Frog calls and speciation: the retrograde evolution of homogamic acoustic signaling systems in hybrid zones. En: *The Evolution of the Amphibian Auditory System* (B. FRITZSCH, M.J. RYAN, W. WILCZYNSKI, T.E. HETHERINGTON y W. WALKOWIAK, eds.), pp. 613-636. New York: John Wiley & Sons.
- LITTLEJOHN, M.J. y LOFTUS-HILLS, J.J., 1968. An experimental evaluation of pre-mating isolation in the *Hyla ewingi* complex (Anura: Hylidae). *Copeia*, 1968(1): 154-156.
- LITTLEJOHN, M.J. y MARTIN, A.A., 1969. Acoustic interaction between two species of Leptodactylid frogs. *Anim. Behav.*, 17: 785-791.
- LITTLEJOHN, M.J. y WATSON, G.F., 1985. Hybrid zones and homogamy in Australian frogs. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 16: 85-112.
- LOFTUS-HILLS, J.J. y LITTLEJOHN, M.J., 1971. Pulse repetition rate as the basis for mating call discrimination by two sympatric species of *Hyla*. *Copeia*, 1971(1): 154-156.
- LÓPEZ, P.T., NARINS, P.M., LEWIS, E.R. y MOORE, S.W., 1988. Acoustically-induced call modification in the white-lipped frog *Leptodactylus albilabris*. *Anim. Behav.*, 36: 1295-1308.
- LÓPEZ-JURADO, L.F., CABALLERO, M.R. y DOS-SANTOS FREITAS, L., 1979. Biología de la reproducción de *Alytes cisternasii* Boscá 1879. *Doñana, Acta Vert.*, 6: 6-17.
- LÖRCHER, K., 1969. Vergleichende bio-akustische Untersuchungen an der Rot- und Gebbauchunke, *Bombina bombina* (L.) und *Bombina v. variegata* (L.). *Oecologia*, 3: 84-124.
- MAGNIN, E., 1959. Anatomie du têtard d'*Alytes obstetricans*. *Act. Soc. Linn. Bordeaux*, 98: 33-82.
- MÁRQUEZ, R., 1990. *The mating systems of the midwife toads*. Tesis Doctoral. University of Chicago, Chicago.
- MÁRQUEZ, R., 1992. Terrestrial paternal care and short breeding seasons: Reproductive phenology of the midwife toads *Alytes obstetricans* and *A. cisternasii*. *Ecography*, 15: 279-288.
- MÁRQUEZ, R., 1993. Male reproductive success in two midwife toads (*Alytes obstetricans* and *A. cisternasii*). *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 32: 283-291.
- MÁRQUEZ, R., 1995a. Female choice in the midwife toads (*Alytes obstetricans* and *A. cisternasii*). *Behaviour*, 132: 151-161.
- MÁRQUEZ, R., 1995b. Preferencia de las hembras por cantos de frecuencia dominante baja en el sapo partero común *Alytes obstetricans* (Anura, Discoglossidae). Experimentos in situ. *Rev. Esp. Herpetol.*, 9: 77-83.

- MÁRQUEZ, R., 1996. Egg mass and size of tadpoles at hatching in the midwife toads *A. obstetricans* and *A. cisternasii*. Implications for female choice. *Copeia*, 1996: 824-831.
- MÁRQUEZ, R. y BOSCH, J., 1996. Advertisement call of the midwife toad from the Sierras Béticas *Alytes dickhilleni* Arntzen & García-Paris, 1995 (Amphibia, Anura, Discoglossidae). *Herpetol. J.*, 6: 9-14.
- MÁRQUEZ, R. y BOSCH, J., 1997. Male advertisement call and female preference in sympatric and allopatric midwife toads (*Alytes obstetricans* and *Alytes cisternasii*). *Anim. Behav.*, (En prensa).
- MÁRQUEZ, R., ESTEBAN, M. y CASTANET, J., 1997. Size dimorphism and age in midwife toads *A. obstetricans* and *A. cisternasii*. *J. Herpetol.*, 31: 52-59.
- MÁRQUEZ, R., GARCÍA-PARÍS, M. y TEJEDO, M., 1994. El sapo partero bético, nueva especie de la fauna española. *Quercus* 100: 12-15.
- MÁRQUEZ, R., RIVA, I. DE LA y BOSCH, J., 1993. Advertisement calls of Bolivian species of *Hyla*. *Biotropica*, 25: 426-443.
- MÁRQUEZ, R., RIVA, I. DE LA y BOSCH, J., 1995. Advertisement calls of Bolivian Leptodactylidae (Amphibia, Anura). *J. Zool., London*, 237: 313-336.
- MÁRQUEZ, R., RIVA, I. DE LA y BOSCH, J., 1996. The advertisement calls of three glassfrogs from the Andean forests (Amphibia: Anura: Centrolenidae). *Herpetol. J.*, 6: 97-99.
- MÁRQUEZ, R. y TEJEDO, M., 1990. Size-based mating pattern in the treefrog *Hyla arborea*. *Herpetologica*, 46: 172-178.
- MÁRQUEZ, R. y VERRELL, P., 1991. The courtship and mating of the Iberian midwife toad, *Alytes cisternasii* (Amphibia, Anura, Discoglossidae). *J. Zool., London*, 225: 125-139.
- MARSH, R.L. y TAIGEN, T.L., 1987. Properties enhancing aerobic capacity of calling muscles in gray treefrogs, *Hyla versicolor*. *Am. J. Physiol.*, 252: 786-793.
- MARTÍN, J. y LÓPEZ, P., 1990. Amphibians and reptiles as prey of birds in Southwestern Europe. *Smithson. Herpetol. Inf. Serv.*, 82: 1-43.
- MARTIN, W.F., 1972. Evolution of vocalizations in the genus *Bufo*. En: *Evolution in the Genus Bufo* (W.F. BLAIR, ed.), pp. 279-309. Austin: University of Texas Press.
- MAYNARD SMITH, J., 1978. *The evolution of sex*. Cambridge: Cambridge University Press.
- MITCHELL, S.L., 1990. The mating system genetically affects offspring performance in woodhouse's toad. *Evolution*, 44: 502-519.
- MØLLER, A.P., 1991. Sexual ornament size and the cost of fluctuating asymmetry. *Proc. R. Soc. London B*, 243: 1-5.
- MØLLER, A.P., 1992. Female swallow preference for symmetrical male sexual ornaments. *Nature*, 357: 238-240.
- NARINS, P.M., 1982. Behavioral refractory period in neotropical treefrogs. *J. Comp. Physiol. A*, 148: 337-344.
- NARINS, P.M., 1990. Seismic communication in anuran amphibians. *Bioscience*, 40: 268-274.
- NARINS, P.M. y CAPRANICA, R.R., 1978. Communicative significance of the two-note call of the treefrog *Eleutherodactylus coqui*. *J. Comp. Physiol. A*, 127: 1-9.
- NARINS, P.M. y ZELICK, R., 1988. The effects of noise on auditory processing and behavior in amphibians. En: *The Evolution of the Amphibian Auditory System* (B. FRITZSCH, M.J. RYAN, W. WILCZYNSKI, T.E. HETHERINGTON y W. WALKOWIAK, eds.), pp. 637-678. New York: John Wiley & Sons.
- OTTE, D., 1974. Effects and functions in the evolution of signalling systems. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 5: 384-417.
- PAUILLETTE, M., 1977. Répertoire des signaux sonores et configuration biologique spécifique chez les Anoures. *Bull. Soc. Zool. France*, 2: 109-124.
- PAUILLETTE, M., OLIVEIRA, M.E., ROSA, H.D. y CRESPO, E.G., 1992. Is there a dialect in *Pelodytes punctatus* from southern Portugal? *Amphibia-Reptilia*, 13: 97-108.
- PENGILLEY, R.K., 1971. Calling and associated behaviour, of some species of *Pseudobryne* (Anura: Leptodactylidae). *J. Zool., London*, 163: 73-92.
- PENNA, M. y NARINS, P.M., 1989. Effect of acoustic overstimulation on spectral and temporal processing in the amphibian auditory nerve. *J. Acoust. Soc. Am.*, 85: 1617-1629.
- PENNA, M. y VELOSO, A., 1990. Vocal diversity in frogs of the South American temperate forest. *J. Herpetol.*, 24: 23-33.
- RAXWORTHY, C.J., 1990. Non-random mating by size in the midwife toad *Alytes obstetricans*: bigger males carry more eggs. *Amphibia-Reptilia*, 11: 247-252.
- READING, C.J. y CLARKE, R.T., 1988. Multiple clutches, egg mortality and mate choice in the mid-wife toad, *Alytes obstetricans*. *Amphibia-Reptilia*, 9: 357-364.
- REMY, C., 1959. Aperçu de l'anatomie microscopique du système nerveux du têtard du crapaud accoucheur (*Alytes obstetricans* Laur.). *Act. Soc. Linn. Bordeaux*, 98: 83-90.
- REY, J.M., ESTEBAN, M. y SANCHÍZ, B., 1994. Registros corológicos de anfibios españoles fundamentados en engrápilas de lechuga común. *Bol. Asoc. Herpetol. Esp.*, 5: 4-8.
- RHEINLAENDER, J. y KLUMP, G., 1988. Behavioral aspects of sound localization. En: *The Evolution of the Amphibian Auditory System* (B. FRITZSCH, M.J. RYAN, W. WILCZYNSKI, T.E. HETHERINGTON y W. WALKOWIAK, eds.), pp. 297-305. New York: John Wiley & Sons.
- RIVA, I. DE LA, BOSCH, J. y MÁRQUEZ, R., 1996a. The advertisement calls of two bolivian species of toads (Anura: Bufonidae: *Bufo*). *Herpetol. J.*, 6: 59-61.
- RIVA, I. DE LA, MÁRQUEZ, R. y BOSCH, J., 1994. Advertisement calls of Bolivian species of *Scinax* (Amphibia, Anura, Hylidae). *Bijdr. Dierk.*, 64: 75-85.
- RIVA, I. DE LA, MÁRQUEZ, R. y BOSCH, J., 1995. Advertisement calls of eight Bolivian hylids. *J. Herpetol.*, 29: 113-118.
- RIVA, I. DE LA, MÁRQUEZ, R. y BOSCH, J., 1996b. The advertisement calls of four microhylid frogs from Bolivia (Amphibia, Anura). *Am. Midl. Nat.*, 136: 418-422.
- RIVA, I. DE LA, MÁRQUEZ, R. y BOSCH, J., 1996c. The advertisement calls of three South American poison frogs, with comments on their taxonomy and distribution. *J. Nat. Hist.*, 30: 1413-1420.
- RODRÍGUEZ-JIMÉNEZ, A.J., 1984. Fenología del sapo partero ibérico (*Alytes cisternasii* Boscá, 1879). *Alytes (España)*, 2: 9-23.

- RODRÍGUEZ-JIMÉNEZ, A.J., 1988. Fenología de una comunidad de anfibios asociada a cursos fluviales temporales. *Doñana, Acta Vert.*, 15: 29-43.
- ROSA, H.D., VIEGAS, A.M. y CRESPO, E.G., 1990. Genetic structure of Portuguese populations of midwife toads, with special reference to an isolate of *Alytes obstetricans* from Serra de S. Mamede. *Port. Zool.*, 1: 15-25.
- RYAN, M.J., 1985. *The Túngara Frog*. Chicago: University of Chicago Press.
- RYAN, M.J., 1988a. Constraints and patterns in the evolution of anuran acoustic communication. En: *The Evolution of the Amphibian Auditory System* (B. FRITZSCH, M.J. RYAN, W. WILCZYNSKI, T.E. HETHERINGTON y W. WALKOWIAK, eds.), pp. 637-678. New York: John Wiley & Sons.
- RYAN, M.J., 1988b. Energy calling and selection. *Am. Zool.*, 28: 885-898.
- RYAN, M.J., 1990. Sexual selection, sensory systems and sensory exploitation. *Oxford Surv. Evol. Biol.*, 7: 157-195.
- RYAN, M.J., 1991. Sexual selection and communication in frogs. *Trends Ecol. Evol.*, 6: 351-355.
- RYAN, M.J. y DREWES, R.C., 1990. Vocal morphology of the *Physalaemus pustulosus* species group (Leptodactylidae): morphological response to sexual selection for complex calls. *Biol. J. Linn. Soc.*, 40: 37-52.
- RYAN, M.J., FOX, J.H., WILCZYNSKI, W. y RAND, A.S., 1990. Sexual selection for sensory exploitation in the frog *Physalaemus pustulosus*. *Nature*, 343: 66-67.
- RYAN, M.J. y KEDDY-HECTOR, A., 1992. Directional patterns of female mate choice and the role of sensory biases. *Am. Nat.*, 139(suppl.): S4-S35.
- RYAN, M.J., PERRIL, S.A. y WILCZYNSKI, W., 1992. Auditory tuning and call frequency predict population-based mating preferences in the cricket frog, *Acris crepitans*. *Am. Nat.*, 139: 1370-1383.
- RYAN, M.J. y RAND, A.S., 1990. The sensory basis of sexual selection for complex calls in the Túngara frog, *Physalaemus pustulosus* (sexual selection for sensory exploitation). *Evolution*, 44: 305-314.
- RYAN, M.J., WARKENTIN, K.M., MCCLELLAND, B.E. y WILCZYNSKI, W., 1995. Fluctuating asymmetries and advertisement call variation in the cricket frog, *Acris crepitans*. *Behav. Ecol.*, 6: 124-131.
- RYAN, M.J. y WILCZYNSKI, W., 1991. Evolution of intraspecific variation in the advertisement call of a cricket frog (*Acris crepitans*, Hylidae). *Biol. J. Linn. Soc.*, 44: 249-271.
- SANCHÍZ, B., 1984. Análisis filogenético de la tribu Alytini (Anura, Discoglossidae) mediante el estudio de su morfoestructura ósea. En: *Historia biológica del ferret (Life history of the Mallorcan midwife toad)* (H. HEMMER y J.A. ALCOVER, eds.), pp. 61-108. Mallorca: Moll.
- SANCHÍZ, B., 1997. *Saliencia. Hanbuch der Paläoberpetologie. Pars 4*. Stuttgart: Gustav Fisher Verlag.
- SANDERSON, N., SZYMURA, J.M. y BARTON, N.H., 1992. Variation in mating call across the hybrid zone between the fire-bellied toads *Bombina bombina*, and *B. variegata*. *Evolution*, 46: 595-607.
- SCHALLER, G.B., 1972. *The serengeti lion: a study of predator-prey relations*. Chicago: University of Chicago Press.
- SCHLÜTER, A., 1981. Bio-akustische Untersuchungen an Bufoniden in einem begrenzten Gebiet des tropischen Regenwaldes von Peru. *Salamandra*, 17: 99-105.
- SCHMIDT, R.S., 1991. Neural correlates of frog calling: production by two semi-independent generators. *Behav. Brain Res.*, 50: 17-30.
- SCHNEIDER, H., 1966. Die Paarungsrufe einheimischer Froschlurche (Discoglossidae, Pelobatidae, Bufonidae, Hylidae). *Z. Morphol. Ökol. Tiere*, 57: 119-136.
- SCHNEIDER, H., 1967. Rufe und Rufverhalten des Laubfrosches *Hyla arborea arborea* (L.). *Z. Vergl. Physiol.*, 57: 174-189.
- SCHNEIDER, H., 1968. Bio-akustische Untersuchungen a Mittelmeerlaubfrosch. *Z. Vergl. Physiol.*, 61: 369-385.
- SCHNEIDER, H., 1971. Die steuerung des täglichen Rufbeginns beim Laubfrosch *Hyla arborea arborea* (L.). *Oecologia*, 8: 310-320.
- SCHNEIDER, H., 1974. Structure of the mating calls and relationships of the European treefrogs (Hylidae, Anura). *Oecologia*, 14: 99-110.
- SCHNEIDER, H., 1988. Peripheral and central mechanisms of vocalization. En: *The Evolution of the Amphibian Auditory System* (B. FRITZSCH, M.J. RYAN, W. WILCZYNSKI, T.E. HETHERINGTON y W. WALKOWIAK, eds.), pp. 537-558. New York: John Wiley & Sons.
- SCHNEIDER, H. y EICHELBERG, H., 1974. The mating call of hybrids of the fire-bellied toad and yellow-bellied toad (*Bombina bombina* (L.), *Bombina v. variegata* (L.), Discoglossidae, Anura). *Oecologia*, 16: 61-71.
- SCHNEIDER, H., HUSSEIN, F. y AKEF, M.S.A., 1986. Comparative bioacoustic studies in the yellow-bellied toad, *Bombina variegata* (L.), and relationships of European and Asian species and subspecies of the genus *Bombina* (Anura, Amphibia). *Born. Zool. Beitr.*, 37: 49-67.
- SCHNEIDER, H. y JOERMANN, G., 1988. Mating calls of water frogs (Ranidae) from lake Skutari, Yugoslavia, and the relationship to water frogs of other regions. *Z. Zool. Syst. Evolut.-Forsch.*, 26: 261-275.
- SCHNEIDER, H., JOERMANN, G. y HÖDL, W., 1988. Calling and antiphonal calling in four neotropical anuran species of the family Leptodactylidae. *Zool. Jb. Physiol.*, 92: 77-103.
- SCHNEIDER, H. y SINSCH, U., 1991. Mating call variation in lake frogs referred to as *Rana ridibunda*. *Z. Zool. Syst. Evolut.-Forsch.*, 30: 297-315.
- SCHNEIDER, H., SINSCH, U. y SOFIANIDOU, T.S., 1993. The water frogs of Greece. Bioacoustic evidence for a new species. *Z. Zool. Syst. Evolut.-Forsch.*, 31: 47-63.
- SCHWARTZ, J.J., 1987. The function of call alternation in anuran amphibians: A test of three hypotheses. *Evolution*, 41: 461-471.
- SCHWARTZ, J.J., 1989. Graded aggressive calls of the spring peeper *Pseudacris crucifer*. *Herpetologica*, 45: 172-181.
- SCHWARTZ, J.J., 1991. Why stop calling? A study of unison bout singing in a Neotropical treefrog. *Anim. Behav.*, 42: 565-577.
- SCHWARTZ, J.J., 1993. Male calling behavior, female discrimination and acoustic interference in the Neotropical treefrog *Hyla microcephala* under realistic acoustic conditions. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 32: 401-414.

- SCHWARTZ, J.J., 1994. Male advertisement and female choice in frogs: recent findings and new approaches to the study of communication in a dynamic acoustic environment. *Am. Zool.*, 34: 616-624.
- SCHWARTZ, J.J. y RAND, A.S., 1991. The consequences for communication of call overlap in the túngara frog, a neotropical anuran with a frequency-modulated call. *Ethology*, 89: 73-83.
- SCHWARTZ, J.J., RESSEL, S. y BEVIER, C.R., 1995. Carbohydrate and calling: depletion of muscle glycogen and the chorusing dynamics of the neotropical treefrog *Hyla microcephala*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 30: 125-135.
- SCHWARTZ, J.J. y WELLS, K.D., 1983a. An experimental study of acoustic interference between two species of a neotropical treefrogs. *Anim. Behav.*, 31: 181-190.
- SCHWARTZ, J.J. y WELLS, K.D., 1983b. The influence of background noise on the behaviour, of a neotropical treefrog, *Hyla ebraccata*. *Herpetologica*, 39: 121-129.
- SCHWARTZ, J.J. y WELLS, K.D., 1984a. Interspecific acoustic interactions of the neotropical treefrog *Hyla ebraccata*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 14: 211-224.
- SCHWARTZ, J.J. y WELLS, K.D., 1984b. Vocal behavior of the neotropical treefrog *Hyla pblebodes*. *Herpetologica*, 40: 452-463.
- SCHWARTZ, J.J. y WELLS, K.D., 1985. Intra- and interspecific vocal behavior of the neotropical treefrog *Hyla microcephala*. *Copeia*, 1985: 27-38.
- SEARCY, W.A. y ANDERSSON, M.B., 1986. Sexual selection and the evolution of song. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 17: 507-533.
- SHOFNER, W.P. y FENG, A.S., 1984. Quantitative light and scanning electron microscopic study of the developing auditory organs in the bullfrog: Implications on their functional characteristics. *J. Comp. Neurol.*, 224: 141-154.
- SOKAL, R.R. y RHOLF, F.J., 1988. *Biometría*. Madrid: H. Blume Ediciones.
- SOULÉ, M., 1982. Allometric variation. 1. The theory and some consequences. *Am. Nat.*, 120: 751-764.
- STEINWARZ, D. y SCHNEIDER, H., 1991. Distribution and bioacoustics of *Rana perezi* Seoane, 1885 (Amphibia, Anura, Ranidae) in Tunisia. *Bonn. Zool. Beitr.*, 42: 283-297.
- STIEBER, I.B. y NARINS, P.M., 1990. Temperature-dependence of auditory nerve response properties in the frog. *Hearing Res.*, 46: 63-82.
- SULLIVAN, B.K. y LEEK, M.R., 1987. Acoustic communication in Woodhouse's toad (*Bufo woodhousei*) II. Response of females to variation in spectral and temporal components of advertisement calls. *Behaviour*, 103: 16-26.
- SULLIVAN, B.K. y WALSBURG, G.E., 1985. Call rate and aerobic capacity in Woodhouse's toad (*Bufo woodhousei*). *Herpetologica*, 41: 404-407.
- TAIGEN, T.L., WELLS, K.D. y MARSH, R.L., 1985. The enzymatic basis of high metabolic rates in calling frogs. *Physiol. Zool.*, 58: 719-726.
- TEJEDO, M., 1988. Fighting for females in the toad *Bufo calamita* is affected by the operational sex ratio. *Anim. Behav.*, 36: 1765-1769.
- TEJEDO, M., 1992. Large male mating advantage in natterjack toads, *Bufo calamita*: sexual selection or energetic constraints?. *Anim. Behav.*, 44: 557-569.
- TELFORD, S.D., DYSON, M.I. y PASSMORE, N.I., 1989. Mate choice occurs only in small choruses of painted reed frogs *Hyperolius marmoratus*. *Bioacoustics*, 2: 47-53.
- THORNHILL, R., 1992. Female preferences for the pheromone of males with low fluctuating asymmetry in the Japanese scorpionfly (*Panorpa japonica*: Mecoptera). *Behav. Ecol.*, 3: 277-283.
- TINSLEY, R.C., 1990. The influence of parasite infection on mating success in spadefoot toads, *Scaphiopus couchii*. *Am. Zool.*, 30: 313-324.
- TRIVER, R.L., 1972. Parental investment and sexual selection. En: *Sexual Selection and the Descent of Man* (B.G. CAMPBELL, ed.), pp. 136-179. Chicago: Aldine Press.
- TUTTLE, M.D. y RYAN, M.J., 1982. The role of synchronized calling, ambient light, and ambient noise, in anti-bat-predator behavior of a treefrog. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 11: 125-131.
- VAN VARK, G.N. y SCHAAFSMA, W., 1992. Advances in the quantitative analysis of skeletal morphology. En: *Skeletal Biology of Past Peoples: Research Methods* (S.R. SANDERS y M.A. KATZENBERG, eds.), pp. 225-257. New York: Wiley-Liss.
- VERRELL, P.A. y BROWN, L.E., 1993. Competition among females for mates in a species with male parental care, the midwife toad *Alytes obstetricans*. *Ethology*, 93: 247-257.
- VIEGAS, A.M. y CRESPO, E.G., 1985. Sur la structure génétique de deux populations allopatriques d'*Alytes obstetricans boscai* et d'*Alytes cisternasii* (Amphibia, Discoglossidae) du Portugal. *Alytes*, 4: 1-11.
- WAAGE, J.K., 1984. Sperm competition and the evolution of Odonate mating systems. En: *Sperm Competition and the Evolution of Animal Mating Systems* (R.L. SMITH, ed.), pp. 251-290. London: Academic Press.
- WAGNER, W.E. Jr., 1989a. Graded aggressive signals in Blanchard's cricket frog: vocal responses to opponent proximity and size. *Anim. Behav.*, 38: 1025-1038.
- WAGNER, W.E. Jr., 1989b. Fighting, assessment, and frequency alteration in Blanchard's cricket frog. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 25: 429-436.
- WAGNER, W.E. Jr. y SULLIVAN, B.K., 1995. Sexual selection in the gulf coast toad, *Bufo valliceps*: female choice based on variable characters. *Anim. Behav.*, 49: 305-319.
- WALDMAN, B., RICE, J.E. y HONEYCUTT, R.C., 1992. Kin recognition and incest avoidance in toads. *Am. Zool.*, 32: 18-30.
- WALKOWIAK, W., 1992. Acoustic communication in the fire-bellied toad: an integrative neurobiological approach. *Ethol. Ecol. Evol.*, 4: 63-74.
- WARNER, R.R., 1975. The adaptative significance of sequential hermaphroditism in animals. *Am. Nat.*, 109: 61-82.
- WEATHERHEAD, P.J. y ROBERTSON, R.J., 1979. Offspring quality and the polygyny threshold: the "sexy son hypothesis". *Am. Nat.*, 113: 201-208.
- WELLS, K.D., 1977a. The social behavior of anuran amphibians. *Anim. Behav.*, 25: 666-693.
- WELLS, K.D., 1977b. The courtship of frogs. En: *The Reproductive Biology of Amphibians* (D.H. TAYLOR y S.I. GUTTMAN, eds.), pp. 233-262. New York/London: Plenum.

- WELLS, K.D., 1988. The effect of social interactions on anuran vocal behavior. En: *The Evolution of the Amphibian Auditory System* (B. FRITZSCH, M.J. RYAN, W. WILCZYNSKI, T.E. HETHERINGTON y W. WALKOWIAK, eds.), pp. 433-454. New York: John Wiley & Sons.
- WELLS, K.D. y SCHWARTZ, J.J., 1982. The effect of vegetation on the propagation of calls in the neotropical frog *Centrolenella fleischmanni*. *Herpetologica*, 38: 449-455.
- WELLS, K.D. y SCHWARTZ, J.J., 1984. Vocal communication in a neotropical tree frog *Hyla ebraccata*: Advertisement calls. *Anim. Behav.*, 32: 405-420.
- WELLS, K.D. y TAIGEN, T.L., 1986. The effect of social interactions on calling energetics in the gray treefrog *Hyla versicolor*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 19: 9-18.
- WELLS, K.D. y TAIGEN, T.L., 1989. Calling energetics of a neotropical treefrog, *Hyla microcephala*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, 25: 13-22.
- WHITNEY, C.L. y KREBS, J.R., 1975a. Mate selection in pacific treefrogs. *Nature*, 255: 325-326.
- WHITNEY, C.L. y KREBS, J.R., 1975b. Spacing and calling in Pacific tree frogs, *Hyla regilla*. *Can. J. Zool.*, 53: 1519-1527.
- WICKLER, W. y SEIBT, U., 1974. Rufen und Antworten bei *Kassina senegalensis*, *Bufo regularis* und anderen Anuren. *Z. Tierpsychol.*, 34: 524-537.
- WILCZYNSKI, W., MCCLELLAND, B.E. y RAND, A.S., 1993. Acoustic, auditory, and morphological divergence in tree species of neotropical frog. *J. Comp. Physiol. A*, 172: 425-438.
- WILLIAMS, G.C., 1966. *Adaptation and Natural Selection*. Princeton: Princeton University Press.
- WILLIAMS, G.C., 1975. *Sex and Evolution*. Princeton: Princeton University Press.
- WILSON, E.O., 1975. *Sociobiologia: La nueva síntesis*. Barcelona: Omega.
- WOODWARD, B.D., 1986. Paternal effects on juvenile growth in *Scaphiopus multiplicatus* (The New Mexico spadefoot toad). *Am. Nat.*, 128: 58-65.
- WOODWARD, B.D., 1987. Paternal effects on offspring traits in *Scaphiopus couchi* (Anura: Pelobatidae). *Oecologica*, 73: 626-629.
- WOODWARD, B.D., TRAVIS, J. y MITCHELL, S., 1988. The effects of the mating system on progeny performance in *Hyla crucifer* (Anura: Hylidae). *Evolution*, 42: 784-794.
- ZAKON, H.H. y WILCZYNSKI, W., 1988. The physiology of the anuran eight nerve. En: *The Evolution of the Amphibian Auditory System* (B. FRITZSCH, M.J. RYAN, W. WILCZYNSKI, T.E. HETHERINGTON y W. WALKOWIAK, eds.), pp. 125-156. New York: John Wiley & Sons.
- ZAR, J.H., 1984. *Biostatistical Analysis*. New Jersey: Prentice-Hall.
- ZELICK, R.D. y NARINS, P.M., 1982. Analysis of acoustically evoked call suppression behaviour, in a neotropical treefrog. *Anim. Behav.*, 30: 728-733.
- ZELICK, R. y NARINS, P.M., 1985. Characterization of the advertisement call oscillator in the frog *Eleutherodactylus coqui*. *J. Comp. Physiol. A*, 156: 223-229.
- 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.
- ZWEIFEL, R.G., 1959. Effect of temperature on call of the frog *Bombina variegata*. *Copeia*, 1959(4): 22-27.
- ZWEIFEL, R.G., 1968. Effects of temperature, body size and hybridization on mating calls of toads *Bufo a. americanus* and *Bufo woodhousii fowleri*. *Copeia*, 1968: 269-285.

ANEXOS

ANEXO I

INTERFACE GRÁFICO Y LISTADO DE SCRIPTS EN LENGUAJE HYPERTALK DE LA PILA HYPERCARD CSER



Visualizar gráfico

```

on mouseUp
  global port
  set lineSize to 1
  if InputLevel(port) < 0 then
    answer "No hay respuesta del MacRecorder." with
    "OK"
    exit mouseUp
  end if
  repeat until the mouse is down
    choose select tool
    drag from 18,78 to 200,177
    domenu "Clear Picture"
    choose line tool
    put 177-InputLevel() into old
    put 19 into i
    repeat until i > 200 or the mouse is down
      put 177-InputLevel(port) into new
      if new > 177 then
        choose browse tool
        exit mouseUp
      end if
      drag from i-1,old to i,new
      put new into old
      put i + 1 into i
    
```

```

end repeat
end repeat
choose browse tool
end mouseUp

```

Respuesta

```

on mouseUp
  global sndsPresent, sndNo
  put second item of the clickLoc into vLoc
  subtract (the top of me) from vLoc
  add the scroll of card field ID 44 to vLoc
  put (vLoc div 12) + 1 into sndNo -12 is the
  textHeight of this fld
  put line sndNo of sndsPresent into cd fld "theSound"
  getInfo
  end mouseUp

```

Reproducir

```

on mouseUp
  put cd fld "theSound" into soundName
  if soundname is empty then exit mouseUp
  Fplay soundName
  if the result = 101 then AnsErr "Incapaza de localizar

```

```

variables globales"
if the result = 102 then AnsErr "Lista llena"
if the result = 103 then AnsErr "Tipo de sonido
desconocido"
if the result < 0 then ShowError (the result)
end mouseUp

```

Datos

```

on mouseUp
global ShowStats
put the hilite of me into ShowStats
if ShowStats then
--set the rect of cd fld "SoundList" to 271,62,396,171
GetInfo
else
--set the rect of cd fld "SoundList" to 271,62,396,241
end if
end mouseUp

```

Empezar

```

on mouseUp
global port
put 1 into SampleNo
if InputLevel(port) < 0 then
answer "No hay respuesta del MacRecorder." with
"OK"
exit mouseUp
end if
put cd fld "freq" into freq
if cd fld "thresh" < 0 then put 0 into cd fld "thresh"
if cd fld "thresh" > 100 then put 100 into cd fld
"thresh"
put cd fld "thresh" into thresh
repeat until the mouse is down
set cursor to busy
put InputLevel(port) into llevel
if llevel > thresh then
put return & the long time & " - " & llevel after-
last line of cd fld "tape"
add 1 to SampleNo
end if
wait (freq) seconds
end repeat
end mouseUp

```

Borrar

```

on mouseUp
put empty into cd fld "tape"
end mouseUp

```

Activar respuesta ON

```

on mouseUp
set numberformat to 0
global port,espera
Fplay Stop
set the hilite of cd btn "Off" to false
set hilite of me to true
put cd fld "theSound" into soundName
put value (cd fld "retardo") into espera
if soundname is empty then exit mouseUp
if cd fld "foo" > 99 then put 99 into cd fld "foo"
if cd fld "foo" < 0 then put 0 into cd fld "foo"
if InputLevel(port) < 0 then
answer "No hay respuesta del MacRecorder." with
"OK"
set the hilite of me to false
set the hilite of cd btn "Off" to true
exit mouseUp
end if
repeat until the mouseClick

```

```

set cursor to busy
put InputLevel (port) into vol
if vol > cd fld "foo" then
Fplay soundName
wait value(espera)
-- Espera a activarte el largo de tu propio sonido
end if
end repeat
Fplay Stop
set the hilite of me to false
set the hilite of cd btn "Off" to true
end mouseUp

```

Activar respuesta OFF

```

on mouseUp
Fplay stop
end mouseUp

```

Borrar

```

on mouseUp
Fplay stop
put cd fld "theSound" into soundName
if soundName is empty then exit mouseUp
if the optionKey is down then
DoErase soundName
else
put "¿ Borrar el sonido: " & soundName & "?" into
theMessage
Answer theMessage with "Cancelar" or "OK"
if it is "OK" then
DoErase soundName
end if
end if
end mouseUp
on DoErase soundName
EraseSnd soundName
ShowError (the result)
updateList
--put empty into cd fld ID 4
GetInfo
end DoErase

```

Silencio

```

on mouseUp
Fplay stop
end mouseUp

```

Salir

```

on mouseUp
answer "¿ Está seguro de querer salir ?" with "No" or
"Si"
if it is "No" then exit mouseUp
DoMenu "Quit HyperCard"
end mouseUp

```

Conexión

```

on mouseUp
global port
set the hilite of bg btn "Printer Port" to false
put "1" into port
set the hilite of me to true
end mouseUp

on mouseUp
global port
set the hilite of bg btn "Modem Port" to false
put "2" into port
set the hilite of me to true
end mouseUp

```

ANEXO II

LISTADO EN LENGUAJE ZBASIC DE LA APLICACIÓN SOLAP

```
00001 CLS
00002 WINDOW #1,"Solap",(4,38)-(635,395),1
00003 PRINT "
00004 PRINT "
00005 PRINT "
00006 PRINT "
00007 PRINT "
00008 PRINT "
00009 PRINT "
00010 PRINT
00011 PRINT "El fichero de entrada debe ser un archivo de texto de dos columnas con una coma"
00012 PRINT "entre los datos. La primera columna debe contener los loc del animal llamado A"
00013 PRINT "y la segunda los del B. El animal A es siempre el A aunque en ocasiones lo"
00014 PRINT "secuencia sea BA. Cuando en una Interaccion un animal no responda se colocara un"
00015 PRINT "0 en el lugar de su loc, p.e.:locA,0 o 0,locB (el primer loc no puede ser 0,0)."
00016 PRINT "Solap calcula primero el índice de solapamiento real de las llamadas de los 2"
00017 PRINT "individuos. Despues para cada animal genera una serie de llamadas tomando al"
00018 PRINT "azar todos y cada uno de sus Interloc (sin repeticion), y posteriormente"
00019 PRINT "calcula el índice de solapamiento medio que se obtendría si estas dos series"
00020 PRINT "correspondieran a dos animales que cantasen juntos (es decir el ís. esperado"
00021 PRINT "por azar). La situacion de la primera llamada de la serie es un valor al azar"
00022 PRINT "del primer interloc de cada animal."
00023 PRINT "El índice de solapamiento de una llamada es la relación entre el tiempo en que"
00024 PRINT "solapa esa llamada con la del vecino y su duración. Por tanto cuando una"
00025 PRINT "llamada no solapa con otra su ís. es 0."
00026 PRINT "El índice de llamadas atractivas es la proporción de llamadas de los dos"
00027 PRINT "individuos que no solapan."
00028
00029 PRINT
00030
00031 *****datos Iniciales*****
00032
00033 CLEAR
00034 DEFSTR A-Z
00035 DEFDBL A-Z
00036 DEFINT A-Z
00037
00038 INPUT "Nombre del archivo de datos:":Entrada$
00039 INPUT "Duracion media de A:":DurA#
00040 INPUT "Duracion media de B:":DurB#
00041 INPUT "Numero de simulaciones:":Simu%
00042 INPUT "Velocidad de ejecucion (R/L):":V$
00043 'entrada$="ejemplo":durA#=190:durB#=170:simu%=10:v$="R"
00044 CLS
00045
00046 OPEN "I",1,Entrada$
00047
00000 DIM LocA$(1200),LocB$(1200)
00000 DIM llocA$(1200),llocB$(1200)
00000 DIM Orden1A$(1200),Orden2A$(1200)
00000 DIM Orden1B$(1200),Orden2B$(1200)
00052 DIM llocazarA$(10001),llocazarB$(10001)
00000 DIM AzarlocA$(1200),AzarlocB$(1200)
00054 DIM lmsA$(1200),lmsB$(1200)
00055 DIM GA$(1200),GB$(1200)
00056 DIM GaA$(1200),GaB$(1200)
00057
00058 Nf%=1
00059 DO
00060 INPUT#1, A#,B#
00061 LocA$(Nf%)=A#:LocB$(Nf%)=B#
00062 Nf%=Nf%+1
00063 UNTIL EOF(1)
00064 CLOSE#1
00065 Nf%=Nf%-1
00066
00067 Salida$=Entrada$+"",result"
00068 DEF OPEN "TEXTTHNG"
00069 OPEN O,2,Salida$
00070
```

```

00071 *****Calculo de los solapamientos en la secuencia real*****
00072
00073 PRINT ***** CALCULO REAL DE SOLAPAMIENTOS *****
00074 PRINT #2:"REAL"
00075 PRINT:PRINT "Iteraccion ","Distancla ","Tipo ","I.s.A ","I.s.B "
00076
00077 ConA%=0:ConB%=0:Ns%=0:lsA#=0:lsB#=0
00078 FOR F=1 TO Nf%
00079
00080 IF LocB%(F%)=0 THEN Tipo$="NI":ConA%=ConA%+1:Dif#=999999:SA#=0:SB#=99:GOTO "Result"
00081 IF LocA%(F%)=0 THEN Tipo$="NI":ConB%=ConB%+1:Dif#=999999:SB#=0:SA#=99:GOTO "Result"
00082
00083 Dif#=LocB%(F)-LocA%(F)
00084 ConA%=ConA%+1:ConB%=ConB%+1
00085
00086 IF Dif#=0 THEN GOSUB "casoAB"
00087 IF Dif#>0 THEN GOSUB "casoAB"
00088 IF Dif#<0 THEN GOSUB "casoBA"
00089
00090 "Result"
00091 PRINT F,Dif#,Tipo$,:PRINT USING "###.###";SA#,USING "###.###";SB#
00092
00093 NEXT F
00094
00095 PRINT:PRINT "Indice de llamadas atractivas (A+B):",USING "###.###";(ConA%+ConB%-Ns%)/(ConA%+ConB%)
00096 PRINT "Indice de interacciones con solapamiento:",(Ns%/2)"/;(ConA%-1);USING "###.###";(Ns%/2)/(ConA%-1)
00097 PRINT "Indice medio de solapamiento de A:",USING "###.###";lsA#/ConA%
00098 PRINT "Indice medio de solapamiento de B:",USING "###.###";lsB#/ConB%
00099
00100 PRINT #2:"Indice de llamadas atractivas (A+B):",USING "###.###";(ConA%+ConB%-Ns%)/(ConA%+ConB%)
00101 PRINT #2:"Indice de interacciones con solapamiento:",USING "###.###";(Ns%/2)/(ConA%-1)
00102 PRINT #2:"Indice medio de solapamiento de A:",USING "###.###";lsA#/ConA%
00103 PRINT #2:"Indice medio de solapamiento de B:",USING "###.###";lsB#/ConB%
00104
00105 GAr%=lsA#/ConA%:GBr%=lsB#/ConB%
00106
00107 PRINT:PRINT"Presione una tecla para continuar."
00108 "Pausa0"
00109 A$=INKEY$:IF A$="" THEN GOTO "Pausa0"
00110 CLS
00111
00112
00113 *****calculo de solapamientos al azar*****
00114
00115 'se calculan los Interloc (no los Intercalls)
00116 FOR F=1 TO Nf%:llocA%(F)=-1:llocB%(F)=-1:NEXT F
00117
00118 Cont1%=1:Cont2%=2:A%=1:B%=1
00119 "NoceroA"
00120 IF LocA%(Cont2%)=0 THEN Cont2%=Cont2%+1:A%=A%+1:GOTO "NoceroA"
00121 llocA%(B%)=LocA%(Cont2%)-LocA%(Cont1%)
00122 Cont1%=Cont2%:Cont2%=Cont2%+1
00123 A%=A%+1:B%=B%+1:IF A%<Nf% THEN GOTO "NoceroA"
00124 B%=B%-1
00125
00126 Cont1%=1:Cont2%=2:C%=1:D%=1
00127 "NoceroB"
00128 IF LocB%(Cont2%)=0 THEN Cont2%=Cont2%+1:C%=C%+1:GOTO "NoceroB"
00129 llocB%(D%)=LocB%(Cont2%)-LocB%(Cont1%)
00130 Cont1%=Cont2%:Cont2%=Cont2%+1
00131 C%=C%+1:D%=D%+1:IF C%<Nf% THEN GOTO "NoceroB"
00132 D%=D%-1
00133
00134
00135 *****creacion de secuencias al azar*****
00136
00137 lmla#=0:lms#=0:lmsA#=0:lmsB#=0
00138
00139
00140 PRINT#2,"AZAR"
00141
00142 FOR Veces=1 TO Simu%
00143
00144 CLS:PRINT:PRINT ***** CALCULO DE SOLAPAMIENTOS AL AZAR. SIMULACION ";
00145 PRINT Veces;" *****:PRINT
00146
00147 'se toman todas y cada uno de los Interloc al azar
00148
00149 AzartocA%(1)=RND(llocA%(1)):AzartocB%(1)=RND(llocB%(1))
00150
00151 'Animal A
00152 FOR F=1 TO B%:T%=RND(10000):Orden1 A%(F)=T%:llocazarA%(T%)=llocA%(F):NEXT F
00153 FOR F=1 TO B%:Orden2A%(F)=0:NEXT F
00154 N%=1:Contf%=1
00155 "BucleA"
00156 Norden%=0
00157 IF N%>B% THEN GOTO "FinA"

```

```

00158 M%=Orden1A%(N%)
00159 IF M%=1000000 THEN N%=N%+1:GOTO "BucleA"
00160 FOR F=1 TO B%
00161 IF Orden1A%(F)<M% THEN M%=Orden1A%(F):Norden%=F
00162 NEXT F
00163 IF Norden%<>0 THEN Orden2A%(Cont%)=M%:Orden1A%(Norden%)=1000000:Cont%=Cont%+1:GOTO "BucleA"
00164 Orden2A%(Cont%)=M%:Orden1A%(N%)=1000000:N%=N%+1:Cont%=Cont%+1:GOTO "BucleA"
00165 "FinA"
00166
00167 "Animal B"
00168 FOR F=1 TO D%:T%=RND(10000):Orden1B%(F)=T%:IlocazarB%(T%)=IlocB%(F):NEXT F
00169 FOR F=1 TO D%:Orden2B%(F)=0:NEXT F
00170 N%=1:Cont%=1
00171 "BucleB"
00172 Norden%=0
00173 IF N%>D% THEN GOTO "FinB"
00174 M%=Orden1B%(N%)
00175 IF M%=1000000 THEN N%=N%+1:GOTO "BucleB"
00176 FOR F=1 TO D%
00177 IF Orden1B%(F)<M% THEN M%=Orden1B%(F):Norden%=F
00178 NEXT F
00179 IF Norden%<>0 THEN Orden2B%(Cont%)=M%:Orden1B%(Norden%)=1000000:Cont%=Cont%+1:GOTO "BucleB"
00180 Orden2B%(Cont%)=M%:Orden1B%(N%)=1000000:N%=N%+1:Cont%=Cont%+1:GOTO "BucleB"
00181 "FinB"
00182
00183 'se calculan los loc de la secuencia al azar
00184
00185 IF V$="L" THEN PRINT "Secuencia al azar del animal A:":PRINT "loc","Intercal"
00186 IF V$="L" THEN PRINT USING "#####.#",AzarlocA#(1),USING "#####.#",IlocazarA#(Orden2A(1))
00187 FOR F=2 TO B%+1:AzarlocA%(F)=AzarlocA%(F-1)+IlocazarA%(Orden2A(F-1))
00188 IF V$="L" THEN PRINT USING "#####.#",AzarlocA%(F),USING "#####.#",IlocazarA%(Orden2A(F))
00189 NEXT F
00190 IF V$="L" THEN PRINT:PRINT "Secuencia al azar del animal B:":PRINT "loc","Intercal"
00191 IF V$="L" THEN PRINT USING "#####.#",AzarlocB#(1),USING "#####.#",IlocazarB#(Orden2B(1))
00192 FOR F=2 TO D%+1:AzarlocB%(F)=AzarlocB%(F-1)+IlocazarB%(Orden2B(F-1))
00193 IF V$="L" THEN PRINT USING "#####.#",AzarlocB%(F),USING "#####.#",IlocazarB%(Orden2B(F))
00194 NEXT F
00195
00196 PRINT
00197
00198 'se calcula el solapamiento de los 2 secuencias creadas
00199
00200 IsA#=0:IsB#=0
00201 Ni%=0:Uf%=0
00202
00203 C%=0:F%=1:N%=1:Ns%=0
00204 "Toma un A"
00205 A%=AzarlocA%(F%)
00206 "Toma un B"
00207 B%=AzarlocB%(N%)
00208
00209 Dif#=B%-A#
00210 IF Dif#=0 THEN GOSUB "casoAB"
00211 IF Dif#>0 THEN GOSUB "casoAB"
00212 IF Dif#<0 THEN GOSUB "casoBA"
00213 IF SA#<=0 AND V$="L" THEN PRINT Tipo$:" A":F%:"solapa con": B":N%,USING "###.###":SA#,USING "###.###":SB#:GOTO
"Siguiete vuelta"
00214 N%=N%+1
00215 IF N%<=D%+1 THEN GOTO "Toma un B"
00216 "Siguiete vuelta"
00217 N%=1:F%=F%+1
00218 IF F%<=B%+1 THEN GOTO "Toma un A"
00219
00220 IF V$="L" THEN PRINT:PRINT "Indice de llamadas atractivas (A+B):",USING "###.###":(B%+D%-Ns%+2)/(B%+D%+2)
00221 IF V$="L" THEN PRINT "Indice de interacciones con solapamiento:",(Ns%/2):"/":Ni%,"=":USING "###.###":(Ns%/2)/Ni%
00222 IF V$="L" THEN PRINT "Indice medio de solapamiento de A:",USING "###.###":IsA#/(B%+1)
00223 IF V$="L" THEN PRINT "Indice medio de solapamiento de B:",USING "###.###":IsB#/(D%+1)
00224 PRINT #2,"Indice de llamadas atractivas (A+B):",USING "###.###":(B%+D%-Ns%+2)/(B%+D%+2)
00225 PRINT #2,"Indice de interacciones con solapamiento:",USING "###.###":(Ns%/2)/Ni%
00226 PRINT #2,"Indice medio de solapamiento de A:",IsA#/(B%+1)
00227 PRINT #2,"Indice medio de solapamiento de B:",IsB#/(D%+1)
00228
00229 GA#(Veces)=IsA#/(B%+1):GB#(Veces)=IsB#/(D%+1)
00230
00231 Imla#=#Imla#+(B%+D%-Ns%+2)/(B%+D%+2):Imis#=Imis#+(Ns%/2)/Ni%
00232 ImsA#=ImsA#+(IsA#/(B%+1)):ImsB#=ImsB#+(IsB#/(D%+1))
00233
00234 PRINT:PRINT"Presione una tecla para continuar."
00235 "Pausa2"
00236 A$=INKEY$:IF A$="" AND V$="L" THEN GOTO "Pausa2"
00237
00238 NEXT Veces
00239
00240 CLS
00241 PRINT "***** SUMARIO DE LAS SIMULACIONES *****":PRINT
00242 PRINT "Medla del indice de llamadas atractivas (A+B):",USING "###.###":Imla#/Simu%
00243 PRINT "Medla del indice de interacciones con solapamiento:",USING "###.###":Imis#/Simu%

```

```

00244 PRINT "Media del I.s. de A:";USING "##.###";ImsA#/Simu%
00245 PRINT "Media del I.s. de B:";USING "##.###";ImsB#/Simu%
00246 CLOSE 2
00247
00248 "Pausa3"
00249 A$=INKEY$:IF A$="" THEN GOTO "Pausa3"
00250
00251
00252 *****subrutinas*****
00253
00254 "casoAB"
00255 IF Dif#<(AzarlocA#(F%+1)-AzarlocA#(F%))/2 THEN GOSUB "InteraccionAB"
00256 IF Dif#>DurA# THEN Tipo$="NS":SA#=0:SB#=0:RETURN
00257 Ns%=Ns%+2
00258 SA#=ABS((DurB#-Dif#)/DurA#)
00259 SB#=ABS((DurB#-Dif#)/DurB#)
00260 IsA#=IsA#+SA#
00261 IsB#=IsB#+SB#
00262 Tipo$="AB"
00263 RETURN
00264
00265 "casoBA"
00266 Dif#=ABS(Dif#)
00267 IF Dif#<(AzarlocA#(F%)-AzarlocA#(F%-1))/2 THEN GOSUB "InteraccionBA"
00268 IF Dif#>DurB# THEN Tipo$="NS":SA#=0:SB#=0:RETURN
00269 Ns%=Ns%+2
00270 SA#=ABS((DurA#-Dif#)/DurA#)
00271 SB#=ABS((DurA#-Dif#)/DurB#)
00272 IsA#=IsA#+SA#
00273 IsB#=IsB#+SB#
00274 Tipo$="BA"
00275 RETURN
00276
00277 "InteraccionAB"
00278 IF U1%=F% THEN RETURN
00279 IF V$="L" THEN IF V$="L" THEN PRINT "A";F%;"Interacciona con B";N%
00280 U1%=N%
00281 N1%=N1%+1
00282 RETURN
00283
00284 "InteraccionBA"
00285 IF U1%=N% THEN RETURN
00286 IF V$="L" THEN PRINT "B";N%;"Interacciona con A";F%
00287 U1%=F%
00288 N1%=N1%+1
00289 RETURN

```