A photograph of a hole in the ground, likely a burrow entrance, with colorful light patterns (rainbow-like) emanating from the opening. The background is reddish-brown soil.

Interacciones acústicas de una especie de *Ctenomys* de la provincia de La Rioja

Juan Pablo Amaya

2017

**Director: Dr. Juan Ignacio Areta
Codirector: Dra. Cecilia Clara Morgan
Facultad de Ciencias Naturales y Museo
Universidad Nacional de La Plata**

Contenido

Agradecimientos	5
Resumen en español	6
Resumen en inglés	9
Capítulo 1: Roedores Subterráneos	
Introducción	12
Características del ambiente subterráneo	12
Comunicación en los roedores subterráneos	13
Comunicación acústica	14
Propiedades acústicas del ambiente subterráneo	14
Audición en roedores subterráneos	16
Roedores subterráneos del género <i>Ctenomys</i>	17
Comunicación acústica en <i>Ctenomys</i>	18
Objetivo general de la tesis	18
Materiales y métodos generales	18
Taxón y sitio de estudio	18
Sistema artificial de túneles en laboratorio	19
Capítulo 2. Forma y función de la vocalización de larga distancia	
Introducción	21
Objetivos específicos	22
Materiales y métodos	22
Grabación de las vocalizaciones a campo	22
Caracterización acústica de las vocalizaciones	24
Correlación entre valores de pico de frecuencia y masa corporal	26
Contexto de la vocalización en estudios de laboratorio	27
Resultados	29
Descripción de la vocalización de larga distancia.....	29
Pico de frecuencia en relación al peso de los individuos	34
Contexto comportamental en cautiverio	34
Discusión	38
Generalidades.....	38
Comparación con otras especies de <i>Ctenomys</i>	39
Complejidad de las vocalizaciones	40
Importancia funcional de las vocalizaciones de larga distancia	40
Capítulo 3. Desarrollo ontogenético de la vocalización de larga distancia	
Introducción	42
Objetivos específicos	43

Materiales y métodos	44
Individuos de estudio.....	44
Registro de vocalizaciones.....	45
Caracterización de las vocalizaciones	46
Análisis cuantitativo de las series	46
Tipos de series y series anormales	46
Caracterización acústica de las series.....	47
Análisis cuantitativo de las notas individuales	48
Caracterización acústica de las notas individuales.....	48
Análisis estadísticos	51
Resultados	51
Generalidades.....	51
Caracterización de las series.....	52
Series normales	52
Series anormales.....	59
Caracterización de las notas individuales.....	60
Discusión	64
Generalidades.....	64
Aprendizaje vs maduración en la vocalización de larga distancia.....	64
Desarrollo de la vocalización	65
Capítulo 4. Vocalizaciones de corta distancia	
Introducción	69
Objetivos específicos	70
Materiales y métodos	71
Individuos de estudio	71
Registro de las vocalizaciones y comportamiento	71
Caracterización acústica de las vocalizaciones.....	72
Análisis del comportamiento de los individuos.....	74
Resultados	75
Generalidades.....	75
Fenómenos no lineales.....	77
Vocalizaciones de hembras	77
Comportamiento de los individuos	78
Discusión	81
Generalidades.....	81
Comparación con otras especies de <i>Ctenomys</i>	81
Fenómenos no lineales.....	83
Capítulo 5. Conclusiones generales	85

Apéndice 1. Estandarización de mediciones en las voc. de corta distancia	89
Introducción	89
Materiales y métodos.....	90
Resultados	94
Discusión.....	98
Apéndice 2. Parámetros acústicos utilizados	100
Apéndice 3. Muestra de audios (anexo CD)	101
Apéndice 3. Contribuciones de la tesis	103
Bibliografía	104

Agradecimientos

A mi Director **Nacho Areta** por ponerle toda la onda y su gran caudal de conocimiento desde que juntos nos metimos en el mundo de los sonidos subterráneos. Somos los “vascos subterráneos”.

A mis amigos y amigas con los que compartí mi estadía en el CRILAR y siempre estuvieron ayudándome en múltiples cuestiones científicas y de las otras: **Segundo Nuñez Campero, Pablo Lopez, Lucas Fioreli, Mariano Larrovere, Pablo Alasino, Tatiana Sanchez, Sebastian Rocher, Marcos Matchioli y Carina Colque.**

A las integrantes del ECOSON (Laboratorio de Ecología, Comportamiento y Sonidos Naturales), principalmente a **Emi, la Tucu y Gaby.**

A mi Codirectora de Beca de CONICET **Veronica Valentinuzzi** por aceptarme como estudiante y darme la posibilidad de hacer mi doctorado en CRILAR.

A mi Codirectora de Doctorado **Cecilia Morgan** por ayudarme en momentos que realmente lo necesitaba.

A **Mecky, Simona** y recientemente **Ainara** por su cálida y amorosa hospitalidad en cada uno de mis viajes a la provincia de Salta.

A **Martin** y a **Tom**, amigos de hace miles de años.

A mi **Familia** por la incondicionalidad y el amor eterno.

A mi **Andre** hermosa.

Resumen

Los tuco-tuco (*Ctenomys* sp.) son roedores subterráneos que utilizan las vocalizaciones como parte integral de su comportamiento. En esta tesis estudiamos la forma, función y desarrollo ontogenético de la vocalización de larga distancia y la forma y función de las vocalizaciones de corta distancia del Tuco-Tuco de Anillaco.

Forma y función de la vocalización de larga distancia

El ambiente subterráneo impone particulares dificultades en la comunicación de los roedores subterráneos. Las vocalizaciones de larga distancia, son importantes en la comunicación de larga distancia en los tuco-tuco. Caracterizamos la vocalización de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco. Utilizamos grabaciones registradas a campo y describimos el contexto de comportamiento en el que se produjo esta vocalización durante encuentros entre individuos de ambos sexos en laboratorio. Las vocalizaciones de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco son de baja frecuencia, de banda ancha y alta intensidad compuestas por la repetición de dos tipos de sílabas: series (formadas por notas y suaves notas) y notas individuales. Todas las vocalizaciones se iniciaron con series, pero no todas tuvieron notas individuales. Los machos fueron más pesados que las hembras y produjeron vocalizaciones de frecuencia significativamente menor, aunque en los machos las características acústicas de las series y las notas individuales fueron independientes de la masa corporal. La pronunciada variación entre los individuos en cuanto a la disposición y el número de sílabas por vocalización, sumado a la existencia de tres tipos de series (díadas, tríadas y tétradas), creó una diversa colección de patrones sintácticos en las vocalizaciones y proporcionaría la oportunidad de codificar varios tipos de información en esta vocalización. La existencia de patrones sintácticos complejos y la descripción de las notas suaves representan nuevos aspectos de la comunicación vocal de *Ctenomys*. Las vocalizaciones de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco parecen ser señales territoriales utilizadas principalmente por los machos. En primer lugar, la emisión de vocalizaciones de larga distancia dio lugar al distanciamiento o mantenimiento del espacio en los encuentros macho-macho y

encuentros macho-hembra. En segundo lugar, estas vocalizaciones se produjeron con mayor frecuencia (en el campo y en el laboratorio) por los machos de la población estudiada. En tercer lugar, los machos produjeron vocalizaciones de larga distancia con mayor frecuencia durante los encuentros macho-macho en comparación con los encuentros macho-hembra. Por último, los machos parecen tener mayor área de acción y estar espacialmente más segregados que las hembras, lo que sugiere que los machos pueden tener mayor necesidad de producir vocalizaciones de larga distancia para anunciar su presencia. Debido a su aparente rareza, las características acústicas y las funciones de las vocalizaciones de larga distancia en las hembras del Tuco-Tuco de Anillaco hembras permanecen mal conocidas.

Desarrollo ontogenético de la vocalización de larga distancia

La ontogenia de las vocalizaciones de los individuos juveniles hasta alcanzar las características de las vocalizaciones de los adultos puede darse de manera no excluyente por aprendizaje vocal y por maduración del aparato vocal. El aprendizaje vocal es la habilidad de un individuo juvenil de desarrollar las vocalizaciones de los adultos en base a un *input auditivo*, mientras que la maduración del aparato vocal es la capacidad de un individuo juvenil de desarrollar las vocalizaciones de los adultos por un programa motor innato. En este capítulo describimos el desarrollo ontogenético de la vocalización de larga distancia en individuos juveniles del Tuco-Tuco de Anillaco aislados acústicamente de individuos adultos durante una parte de su desarrollo. En este tiempo los individuos juveniles desarrollaron normalmente la vocalización de larga distancia de los adultos, apoyando la hipótesis de un desarrollo por maduración del tracto vocal. La vocalización de larga distancia tuvo un desarrollo mixto ya que las dos sílabas que la conforman exhibieron diferentes patrones de desarrollo: las series comenzaron con precursores juveniles que se fueron pareciendo paulatinamente a las de los adultos, pero las notas individuales aparecieron tardíamente *de novo* en la ontogenia, con valores acústicos muy similares o indistinguibles de los de los adultos.

Vocalizaciones de corta distancia

Las señales acústicas de corta distancia (conjuntamente con las señales químicas y táctiles) son importantes en la comunicación de los roedores subterráneos cuando los

individuos se encuentran en el mismo sistema de túneles, ya que las señales visuales no pueden utilizarse en la oscuridad. Las señales acústicas de corta distancia son producidas por los machos durante el cortejo con el fin de estimular a las hembras para la cópula a la vez que son utilizadas por las hembras para evaluar las condiciones del macho. A partir de encuentros diseñados en laboratorio entre individuos macho y hembra sexualmente maduros, pudimos evaluar el comportamiento de los individuos durante los encuentros de cortejo, así como también caracterizar las vocalizaciones de corta distancia asociadas al mismo. Los machos produjeron dos tipos de vocalizaciones de corta distancia: las notas pulsadas y las notas armónicas. Las notas pulsadas fueron vocalizaciones de baja frecuencia y de banda ancha emitidas de forma continua y también de forma discontinua. Las notas pulsadas se produjeron en relación a las notas armónicas y también de forma aislada. Las notas armónicas fueron vocalizaciones de frecuencia alta con una variada forma espectral y se producen entre notas pulsadas emitidas de forma continua. Como parte de su estructura espectral, las notas armónicas pueden tener fenómenos no lineales tales como *subarmónicos* y *caos determinístico*. Los machos produjeron vocalizaciones de corta distancia durante el cortejo. Las notas pulsadas se produjeron cuando el macho está lejos o cerca de la hembra, mientras que las notas armónicas principalmente se produjeron cuando el macho está cerca de la hembra y generalmente precedieron a la monta o cópula. Durante el cortejo, la mayoría de las vocalizaciones de corta distancia fueron producidas por los machos, mientras que las hembras produjeron algunas notas pulsadas de forma discontinua y hubo indicios de que también produjeron notas armónicas, aunque no pudimos corroborarlo fehacientemente.

Abstract

Tuco-tucos (*Ctenomys* sp.) are subterranean rodents that use vocalizations as an integral part of their behavior. In this thesis we studied the form, function and ontogenetic development of the long-range vocalization and the form and function of the short-range vocalizations of Tuco-Tuco de Anillaco.

Form and function of long range vocalization

The underground environment poses particular communication challenges for subterranean rodents. Some loud and low-pitched acoustic signals that can travel long distances are appropriate for long-range underground communication and have been suggested to be territorial signals. Long-range vocalizations are important in long-distance communication in *Ctenomys*. We characterized the long-range vocalization of the Anillaco Tuco-Tuco using recordings from free-living individuals and described the behavioral context in which this vocalization was produced during laboratory staged encounters between individuals of both sexes. Long-range calls of Anillaco tuco-tucos are low-frequency, broad-band, loud, and long sounds composed by the repetition of two syllable types: series (formed by notes and soft-notes) and individual notes. All vocalizations were initiated with series, but not all had individual notes. Males were heavier than females and gave significantly lower-pitched vocalizations, but acoustic features were independent of body mass in males. The pronounced variation among individuals in the arrangement and number of syllables and the existence of three types of series (dyads, triads, and tetrads), created a diverse collection of syntactic patterns in vocalizations that would provide the opportunity to encode multiple types of information. The existence of complex syntactic patterns and the description of soft-notes represent new aspects of the vocal communication of *Ctenomys*. Long-distance vocalizations by Anillaco Tuco-Tuco appear to be territorial signals used mostly in male-male interactions. First, emission of long-range vocalizations resulted in de-escalation or space-keeping in male-male and male-female encounters in laboratory experiments. Second, these vocalizations were produced most frequently (in the field and in the lab) by males in our study population. Third, males produced long-range vocalizations with greater frequency during male-male encounters compared to male-female encounters. Finally, males appear to have larger home ranges that were more

spatially segregated than those of females, suggesting that males may have greater need for long-distance signals that advertise their presence. Due to their apparent rarity, the function and acoustic features of long-range vocalization in female tuco-tucos remain inadequately known.

Ontogeny of long range vocalization

The ontogeny of a juvenile vocalization until reaching its adult characteristics may occur through vocal learning as well as maturation of the vocal apparatus. Vocal learning is the ability of a juvenile to change its vocalizations based on the previous experience of an external auditory input. Vocal changes through maturation of the vocal apparatus would be caused by morphological changes in the vocal apparatus that would merely express an innate motor program. In this chapter, we describe the ontogenetic development of the long-distance vocalization of juveniles of the Anillaco Tuco-Tuco that were acoustically isolated from adults during part of their development. These juveniles developed normal adult long-range vocalizations, supporting the hypothesis of development by maturation of the vocal tract. However, LRV exhibits a mixed developmental mode in which the two syllables types of the vocalization develop differently: while series developed from juvenile precursors that whose features gradually approach those of adults, individual notes appeared later in the ontogeny and de novo, with acoustic features undistinguishable from those of adults

Form and function of short-range vocalizations

Short-range vocalizations play an important role, together with chemical and tactile signals, in the communication of underground rodents when individuals are in the same tunnels system, where visual cues can not be used. Short-range acoustic signals are produced by males during courtship in order to encourage females to copulate; these courtship vocalizations are used by females to assess the conditions of males. We described the behavior of sexually mature male and female individuals during courtship in laboratory staged encounters and characterized the associated short-range vocalizations. Males produced two types of short-distance vocalizations: pulsed

notes and harmonic notes. Pulsed notes were broadband and low frequency sounds emitted continuously or discontinuously. Pulsed notes occurred always related to harmonic notes, and in also isolation. Harmonic notes were high frequency vocalizations with variable spectral representations and occurred in between pulsed notes. Many harmonic notes exhibited nonlinear phenomena such as *subharmonics* and *deterministic chaos*. Short-range vocalizations were produced by males during courtship. Pulsed notes occurred when males were close or away from females. On the other hand, harmonic notes mainly occurred when males were close to females and generally before mating or mounting. During courtship, most short-range vocalizations were produced by males, while females produced some discontinued pulsed notes. Preliminary data indicates that females also emitted some harmonic notes, but we could not confirm this.

Capítulo 1: Roedores Subterráneos

Introducción

Los roedores subterráneos constituyen un grupo filogenéticamente heterogéneo aunados por el ambiente en el que viven, conformado por diferentes linajes de roedores que adoptaron independientemente un modo de vida subterráneo. Así, el término roedores subterráneos no es un agrupamiento taxonómico formal, sino que se constituye por especies de roedores que habitan en galerías subterráneas y realizan la mayor parte de sus actividades bajo la superficie del suelo, presentando múltiples adaptaciones que les permiten vivir en este ambiente (Lacey et al. 2000; Burda et al. 2007).

Los roedores subterráneos se encuentran distribuidos en todos los continentes con excepción de Australia y la Antártida y son al menos 250 especies (38 géneros en 6 familias) (Begall et al. 2007). Las particularidades de tener una distribución casi global y de agrupar diferentes linajes de roedores, los convierte en un fascinante objeto de estudio desde un punto de vista evolutivo, donde emergen convergencias y divergencias moldeadas por el particular ambiente que habitan y por sus propia inercia filogenética (Lacey et al. 2000). Por ejemplo, la morfología externa de los roedores subterráneos es una de las convergencias más notorias y responde a las condiciones que impone el desplazamiento por los estrechos y oscuros túneles donde estos habitan. Así, los roedores subterráneos presentan características que son importantes para reducir la constante fricción contra las paredes de los túneles (Hildebrand 1985) como su aspecto fusiforme con miembros y protuberancias externas reducidos (como el pabellón auditivo externo).

Características del ambiente subterráneo

El ambiente subterráneo es desafiante, relativamente invariante y ejerce una fuerte presión de selección sobre los roedores que lo habitan, desempeñando un rol central en las convergencias evolutivas. De esta forma se espera que los roedores subterráneos compartan una variedad de especializaciones morfológicas, fisiológicas y comportamentales (Nevo 1979).

El ambiente subterráneo se caracteriza por la ausencia de luz, un microclima estable de alta humedad, baja ventilación de gases, baja concentración de oxígeno y alta concentración de dióxido de carbono y temperaturas relativamente invariantes (Burda et al. 2007).

La actividad excavadora relacionada a un modo de vida subterráneo aumenta la actividad respiratoria, incrementando la concentración de dióxido de carbono y disminuyendo la concentración de oxígeno en las galerías, al tiempo que favorece la ventilación y el intercambio gaseoso en estas (Buffenstein 2000). La actividad excavadora demanda un alto costo energético y el mismo varía de acuerdo a la composición del suelo, y al diámetro y la longitud de los túneles (Contreras & McNab 1990).

No obstante estas demandas, el ambiente subterráneo también otorga ventajas importantes para sus habitantes, protegiéndolos contra posibles depredadores en los momentos de mayor vulnerabilidad, como el descanso, la estivación y el período de cría, así como también contra las fluctuaciones ambientales estacionales presentes en la superficie (Burda et al. 2007).

Comunicación en los roedores subterráneos

El medio subterráneo ejerce una fuerte influencia en la biología sensorial de los roedores subterráneos, restringiendo la comunicación al imponer serias dificultades a la transmisión de la mayoría de las señales comunicativas (Schleich et al. 2007), limitando el uso de ciertos modos de comunicación y enfatizando otros (Francescoli 2000). Los roedores subterráneos utilizan primariamente cuatro modos de comunicación: química, táctil, visual y acústica (Francescoli 2000). Los modos de comunicación química, táctil y visual se limitan a transmitir información entre individuos en un mismo sistema de túneles (Francescoli 2000; Zenuto & Fanjul 2002), mientras que la comunicación acústica parece jugar un papel importante tanto para la comunicación entre individuos dentro del mismo sistema de túneles como entre individuos en diferentes sistemas de túneles (Francescoli 1999; Schleich & Busch 2002; Amaya et al. 2016).

Comunicación acústica

La comunicación acústica tiene un rol central en la transmisión de información en los roedores subterráneos (Bednářová et al. 2013; Begall & Burda 2006; Credner et al. 1997; Heffner & Heffner 1992; Francescoli 1999; Heth et al. 1987; Schleich & Busch 2002). Estos utilizan la comunicación acústica en numerosos contextos comunicacionales: identificación individual, inicio contacto entre individuos, indicación sobre estado reproductivo o de dominancia, solicitud de comida y coordinación de comportamientos reproductivos como el cortejo o la cópula (Francescoli 2000). De esta forma, la comunicación acústica en los roedores subterráneos tiene una función central en su organización social y a su vez constituye una importante forma de adaptación comunicacional a las restricciones del ambiente (Schleich et al. 2006).

Numerosos estudios indican que especies de roedores subterráneos no relacionadas filogenéticamente emiten vocalizaciones principalmente de bajas frecuencias (20 a 300 Hz) y medias frecuencias (300 a 2000 Hz) (Heth et al. 1988; Credner et al. 1997; Francescoli 1999; Veitl & Burda 2000; Schleich & Busch 2002). Esto sugiere un proceso de evolución convergente en roedores subterráneos distribuidos en regiones geográficas diferentes (Schleich et al. 2007). De este modo, los roedores subterráneos constituyen un interesante modelo de coevolución entre las propiedades acústicas del ambiente, la capacidad auditiva y la comunicación acústica (Bednářová et al. 2013).

Propiedades acústicas del ambiente subterráneo

Las propiedades acústicas del ambiente subterráneo tienen grandes implicancias en la transmisión, absorción, reflexión y amplificación de las vocalizaciones de los roedores subterráneos (Heth et al. 1986; Lange et al. 2006; Schleich & Antenucci 2009).

Se han investigado las propiedades acústicas en los sistemas de túneles de los siguientes roedores subterráneos: *Nannospalax ehrenbergi* (Heth et al. 1986), *Fukomys mechowii*, *F. kafuensis* (Lange et al. 2006) y *Ctenomys talarum* (Schleich & Antenucci 2009). En los tres trabajos se midió la capacidad de propagación de señales

sintetizadas de tonos puros de distintas frecuencias en cuevas de diferentes diámetros y profundidades, y en suelos de distinta composición. Los resultados fueron similares en los tres casos, concluyendo que los sonidos de baja frecuencia son los menos atenuados y por ende se propagan más efectivamente por el ambiente subterráneo que los sonidos de media y alta frecuencia (Figura 1). Dado que los estudios se realizaron en sistemas de cuevas de distintas especies y en diferentes zonas geográficas, se puede considerar que las propiedades acústicas del ambiente serían similares para todos los roedores subterráneos (Begall et al. 2007).

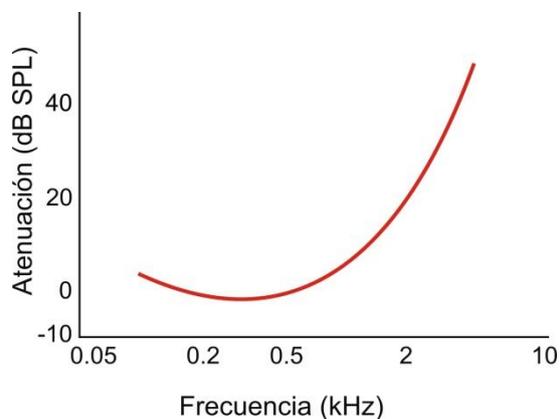


Figura 1. Nivel de Atenuación de señales acústica de distinta frecuencia en el ambiente subterráneo. Adaptado de Begall (2007). En el eje vertical se indica el nivel de Atenuación (dB SPL) y en el eje horizontal la frecuencia (kHz) de las señales medidas. A mayor valor de atenuación menor capacidad de propagación de la señal. La línea roja corresponde esquemáticamente a la media registros tomados en las cuevas de *Nannospalax ehrenbergi* (Heth et al. 1986); *Fukomis mechowii* y *F. kafuensis* (Lange et al. 2006).

Audición en roedores subterráneos

La audición en los roedores subterráneos esta enfatizada hacia las bajas frecuencias y restringido hacia las altas frecuencias (Heffner & Heffner 1992; Heffner et al. 2001; Brückmann & Burda 1997).

En la comunicación acústica intraespecífica existe una relación mutua entre las características de vocalizaciones emitidas y la capacidad auditiva de poder detectarlas. Así, para que una vocalización pueda ser percibida, las frecuencias de la misma deben estar en el rango de frecuencias audible para la especie, y a su vez, la intensidad de esta vocalización tiene que estar igual o por encima del nivel de presión sonora mínimo audible del receptor a la frecuencia especificada (Ehret & Kurt 2010). Correlaciones entre los picos de frecuencias de las vocalizaciones y la capacidad auditiva de las distintas especies fueron encontradas en *Spalax erhenbergi* (Heffner & Heffner 1992), *Heterocephalus glaber* (Heffner & Heffner 1993), *Criptomys sp.* (Brückmann & Burda 1997) y *Spalacopus cyanus* (Begall et al. 2004) (Figura 2).

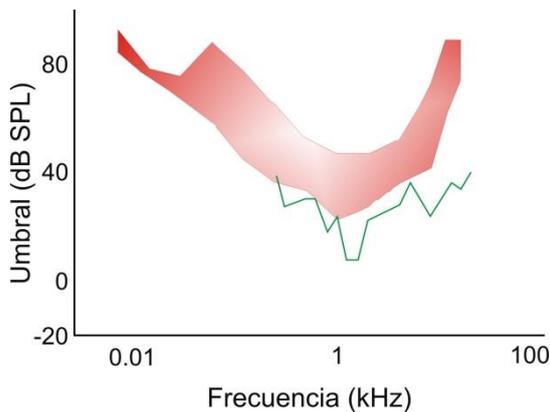


Figura 2. Representación esquemática de los audiogramas comportamentales de 4 especies de roedores subterráneos. Adaptado de Begall (2007). El área sombreada de roja representa los audiogramas de *Geomys bursarius* (Heffner & Heffner 1990), *Heterocephalus glaber* (Heffner & Heffner 1993) y *Criptomys sp.* (Brückmann & Burda 1997); la línea sólida representa el audiograma comportamental de *Spalacopus cyanus* (Begall et al. 2004). En el eje vertical se indica el umbral de audición (dB SPL) y en el eje horizontal la frecuencia (kHz) de las señales utilizadas. A menor valor de Umbral (dB SPL) menos intensidad necesita un sonido de determinada frecuencia para ser percibido.

Roedores subterráneos del género *Ctenomys*

El género *Ctenomys* comprende el grupo más especioso de roedores subterráneos con más de 60 especies, en su mayoría solitarias, distribuidas en el sur de América del Sur (Bidau 2015). Todas estas especies están adaptadas a una vida hipogea y exhiben adaptaciones similares a otros roedores fosoriales y subterráneos. Vulgarmente son conocidos como “tuco-tuco”, “ultu-tuco”, “tunduque” u “ocultos”, entre otros nombres. La sistemática de *Ctenomys* es compleja ya que sus relaciones evolutivas y los límites de las especies aún no se comprenden totalmente (Barquez et al. 2006). Aunque los roedores subterráneos presentan caracteres morfológicos similares debido a las presiones selectivas impuestas por el ambiente subterráneo, distintos factores ambientales como la textura del suelo o el tipo de vegetación, podrían generar diferencias adaptativas entre poblaciones o entre especies (Nevo 1979).

Las especies de *Ctenomys* salen a la superficie para limpiar sus sistemas de túneles, forrajear y dispersarse (Vassallo et al. 1994; Tomotani et al. 2012). Probablemente estos comportamientos han facilitado la retención de ojos totalmente funcionales (Schleich et al. 2010). Los sentidos de la vista y audición son utilizados en combinación para prevenir la depredación (Borghi et al. 2002; Reig et al. 1990).

Al igual que otros roedores subterráneos, los *Ctenomys* construyen sistemas de túneles permanentes como refugio y para asegurarse el acceso a los recursos alimentarios. El costo energético de construcción y mantenimiento de los sistemas de túneles es considerable (Vleck 1979, 1981), y por lo tanto éstos representan un valioso recurso que defender, y muchas especies son extremadamente agresivas en la defensa de sus sistemas de túneles.

La mayoría de las especies de *Ctenomys* son solitarias y por lo tanto necesitan encontrar, atraer y reconocer una pareja reproductiva adecuada, así como también delimitar sus territorios. Esto debe lograrse sin utilizar las típicas señales de comunicación y ni los sentidos normalmente utilizados para estos fines por las especies epigeas (Credner et al. 1997). Las interacciones intraespecíficas entre individuos de mamíferos subterráneos supuestamente solitarios podrían ser más comunes de lo que generalmente se supone (Lacey 2000).

Comunicación acústica en *Ctenomys*

La comunicación acústica en *Ctenomys* es importante tanto para la comunicación entre individuos dentro del mismo sistema de túneles (vocalizaciones de corta distancia) y entre individuos en diferentes sistemas de túneles (vocalizaciones de larga distancia) (Francescoli 1999; Schleich & Busch 2002a, Amaya et al. 2016).

A pesar de su ubicuidad y su importancia en el comportamiento, las vocalizaciones de *Ctenomys* han sido estudiadas con cierto detalle en solo dos especies: *C. pearsoni* (Francescoli 1999; Francescoli 2001; Francescoli 2002; Francescoli & Quirici 2010; Francescoli 2011) y *C. talarum* (Schleich & Busch 2002a; Schleich & Busch 2002b). Los adultos de ambas especies producen vocalizaciones de corta distancia relacionadas con la atracción de posibles parejas reproductivas (Francescoli 1999; Schleich & Busch 2002a), y vocalizaciones de larga distancia relacionadas a la defensa del territorio (Francescoli 1999; Schleich & Busch 2002a), mientras que las crías producen vocalizaciones reclamando cuidado parental (Francescoli 2001; Schleich & Busch 2002b).

Objetivo general de la tesis

El objetivo principal de esta tesis doctoral es conocer distintos aspectos de la comunicación acústica del Tuco-Tuco de Anillaco (*Ctenomys* sp.), realizando un análisis de las características estructurales de las vocalizaciones de larga y corta distancia de machos y hembras adultos, describir el contexto comportamental en el cual estas son producidas y describir el desarrollo ontogenético de las vocalizaciones de larga distancia.

Materiales y métodos generales

Taxón y sitio de estudio

La taxonomía de la población de *Ctenomys* de Anillaco sigue siendo un tema de estudio. Numerosos individuos capturados, estudios de campo y grabaciones de las vocalizaciones demuestran que nuestra área de estudio está ocupada por una sola especie de *Ctenomys* que informalmente denominamos como Tuco-Tuco de Anillaco (*Ctenomys* sp.). A pesar de que esta especie ha sido frecuentemente reportada como

Ctenomys cf. *knighti* (Valentinuzzi et al. 2009; Fracchia et al. 2011); o *C. aff. knighti* (Tomotani et al. 2012; Tachinardi et al. 2014), no se ha propuesto estatus taxonómico formal para esta especie, y parece probable que el Tuco-Tuco de Anillaco (*Ctenomys* sp.) esté más estrechamente vinculado a otras especies de *Ctenomys* descritas en hábitats secos similares en las provincias vecinas de La Rioja (T. Sánchez com. pers. 2016). Dadas las incertidumbres sobre la taxonomía de esta población, preferimos referirnos a ella únicamente como sp. en vez de atribuir una posible designación específica o una afinidad incierta a *C. knighti*.

Los estudios de campo y laboratorio fueron realizados en la localidad de Anillaco (28 ° 48'50 "S, 66 ° 55'54" O; 1365 msnm), provincia de La Rioja, Argentina. El clima en esta localidad es árido, con precipitaciones promedio anuales que oscilan entre 100 y 200 mm y se encuentran limitadas casi exclusivamente a los meses de verano (diciembre-febrero) (Abraham et al. 2009). El suelo es arenoso y presenta escasa materia orgánica, la vegetación predominante es de estepa arbustiva con flora característica de Desierto Monte dominada por especies de Zygophyllaceae, Fabaceae y Cactaceae (Abraham et al. 2009; Fracchia et al. 2011).

Los individuos utilizados para los experimentos de laboratorio fueron capturados en los alrededores de la localidad de Anillaco, utilizando trampas tipo tubo PVC (25 cm de largo y 7,5 cm de diámetro, las cuales se activan cuando el tuco-tuco pisa un piso falso lo que produce el cierre de la puerta de entrada) (Tomotani et al. 2012) y llevados al laboratorio de Cronobiología y Comportamiento en el Centro regional de investigaciones científicas y transferencia tecnológica de La Rioja (CRILAR).

Sistema artificial de túneles en laboratorio

Se diseñó un sistema artificial de túneles que fue montado en el laboratorio de Cronobiología y Comportamiento en el CRILAR. El sistema artificial de túneles fue realizado para estudiar las vocalizaciones del Tuco-Tuco de Anillaco y el contexto comportamental en que estas ocurren. Este sistema constaba de cuatro recintos de cristal transparente con tubos de PVC colocados a lo largo de los bordes exteriores de cada recinto; los tubos de PVC estaban cortados a lo largo por la mitad para permitir la observación de los individuos desde fuera cuando estos se encontraban dentro de los tubos (Figura 3). Cada recinto estaba relleno con abundante viruta de madera en el

suelo y tenía una puerta metálica de caída que conducía a un espacio común entre recintos. El sistema artificial de túneles estaba armado en una habitación de 2,2 x 4,5 m, la misma tenía un ciclo claro-oscuro de 12:12; para la iluminación se utilizó un tubo fluorescente de 2 m de largo (36 W) controlado por un temporizador mecánico (TBCin-China). Durante la fase de luz, la intensidad variaba de 100 a 150 lux a nivel del suelo de los recintos. La fase oscura consistía en una luz tenue proporcionada por lámparas de color rojo incandescente (40W) conectado a un regulador de intensidad (TECLASTAR Milano, 200W). Los individuos utilizados para los distintos experimentos fueron alimentados *ad libitum* con batatas, zanahorias, semillas de girasol, alimento balanceado de conejo y con “alimento natural” para la especie (*Larrea sp.*, *Opuntia sp.*, y *Parkinsonia praecox*) colectada en su ambiente.

Todos los procedimientos siguieron las normas de la Sociedad Americana de Mastozoología para el uso de los mamíferos silvestres en investigaciones (Sikes & Gannon 2011). Todos los experimentos fueron autorizados por el Departamento de Ambiente de la provincia de La Rioja (permisos 028-10 y 062-08) y aprobados por el Comité de Ética de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina (permiso 29-2-12). Luego de finalizados cada uno de los experimentos, los individuos fueron devueltos a su ambiente natural.

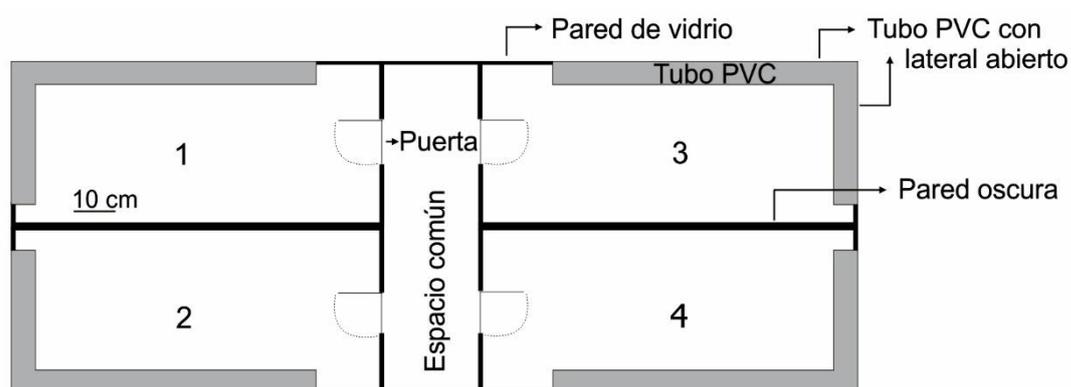


Figura 3. Representación esquemática del sistema de túneles artificiales, donde se realizaron los encuentros diseñados para estudiar el contexto de comportamental de las vocalizaciones de larga distancia y corta distancia del Tuco-Tuco de Anillaco.

Capítulo 2: Forma y función de la vocalización de larga distancia

Introducción

Las señales acústicas pueden viajar largas distancias dependiendo del rango de frecuencia y de la intensidad, y constituyen un modo principal de comunicación de larga distancia en muchas especies que viven bajo tierra (Heth et al. 1986; Lange et al. 2007). Las vocalizaciones de larga distancia transmiten información desde el emisor al receptor separados por una distancia considerable. De este modo, estas señales permiten que desde lejos el receptor pueda advertir la presencia del emisor por las vocalizaciones que este genera (Littlejohn 2001). Esta idea contempla dos aspectos importantes de la señal: por un lado su eficiente transmisión a través del ambiente, y por otro su efectiva interacción con el receptor (Ryan & Kime 2003).

El mantenimiento y la defensa del territorio frecuentemente se encuentran asociadas con la emisión de señales acústicas de larga distancia (Bradbury & Vehrencamp 2011).

Las señales acústicas de larga distancia tienen estructuras espectrales y temporales que les permiten transmitirse a través de una distancia funcional entre el emisor y el receptor. Las señales acústicas de baja frecuencia experimentan durante la transmisión una menor degradación en comparación con las señales acústicas de alta frecuencia (Morton 1977; Marten & Marler 1977; Waser & Brown 1986). Las señales acústicas utilizadas en la comunicación de larga distancia, suelen codificar información distintiva a nivel de especie, ya que el emisor de la señal y el receptor de la misma no pueden utilizar otros modos de comunicación al momento de la emisión-recepción de la señal para transmitir información sobre la identidad de la especie (Marler 1967).

Las vocalizaciones de larga distancia en *Ctenomys* ("tipo-S" de Francescoli 1999; y "tuc tuc" de Schleich & Busch 2002a) son de alta intensidad, compuestas por múltiples notas de baja frecuencia. Aparentemente, en las vocalizaciones de larga distancia de *Ctenomys* las frecuencias que llevan la mayor cantidad de energía están altamente conservadas, lo que sugiere que gran parte de información relevante se codificaría en el patrón rítmico (Francescoli 2000, 2011). Aunque se cree que las

vocalizaciones de larga distancia son utilizadas para indicar la presencia del emisor en el territorio contribuyendo a la defensa del mismo, la función exacta de esta señal nunca se ha examinado en detalle.

Objetivos específicos

1. Proporcionar la primera caracterización acústica cuantitativa de la vocalización de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco, utilizando grabaciones realizadas a campo de individuos macho y hembra de diferentes pesos de una población en la provincia de La Rioja, Argentina.

2. Describir el contexto de comportamiento en el que se produce esta vocalización durante experimentos de laboratorio diseñados para evaluar su función comunicativa.

Además de contribuir al conocimiento de la naturaleza de la comunicación acústica en *Ctenomys*, estos análisis permiten contrastar la hipótesis de que las señales acústicas de larga distancia en especies solitarias de tuco-tuco tengan una función en la defensa del territorio.

Materiales y métodos

Grabación de las vocalizaciones a campo

Las vocalizaciones de larga distancia fueron grabadas desde fuera los sistemas de túneles en donde los individuos vocalizaban. Se utilizó un micrófono direccional (Sennheiser ME-67) montado sobre una pantalla anti viento (Rycote WS4) conectado a una grabadora digital (Marantz Professional PMD-661/MKII). Se registraron las vocalizaciones con una frecuencia de muestreo de 44,1 kHz y 24 bits de profundidad. El ajuste de ganancia de la grabadora fue siempre el mismo y constante para todas las grabaciones. Durante las sesiones de grabación, el investigador se posiciono entre un grupo de los sistemas de túneles esperando a que los individuos del Tuco-Tuco de Anillaco vocalizaran. Cuando una vocalización era percibida, se caminaba lentamente y en silencio hacia la fuente de sonido. Debido que las vocalizaciones de larga distancia son impredecibles y ocurren bajo tierra, no se pudo registrar ninguna vocalización

completa (es decir, que siempre se perdieron algunas de las primeras series de vocalizaciones). Sin embargo, se anotó el número de series que no fueron grabadas con el fin de caracterizar la composición temporal de cada vocalización (Figura 7), pero la duración total real de las vocalizaciones no pudo ser obtenida.

Para proporcionar información sobre el sexo y la madurez sexual de los animales cuyas vocalizaciones fueron registradas, se capturaron 17 de los individuos cuyas vocalizaciones fueron registradas (14 machos adultos y 3 hembras adultas) utilizando trampas tubo (ver página 19) colocadas en la entrada del sistema de túneles más cercano al lugar donde cada individuo había sido grabado. Los individuos capturados fueron transportados al laboratorio de Cronobiología y Comportamiento en el CRILAR, donde se los pesó, sexó y también fueron marcados con microchips (transpondedor Allflex, Francia) insertados debajo de la piel en la parte dorsal detrás de la cabeza. Para tener certeza de que el tuco-tuco capturado era precisamente el que fue grabado, se procedió de la siguiente manera: la entrada al sistema de túneles donde fue capturado el individuo se dejaba abierta, y cada individuo capturado era mantenido en laboratorio por 24 horas. Al día siguiente de la captura, cuando el individuo era devuelto a su hábitat, si la entrada al sistema de túneles todavía estaba abierta, estaba seguro de que el individuo capturado fue el mismo que fue grabado. Si la entrada al sistema de túneles estaba cerrada, había por lo menos un segundo individuo en ese sistema de túneles, y no había certeza en cuanto a la correspondencia entre el individuo capturado y el individuo grabado; en ese caso, se descartaron las vocalizaciones grabadas en ese sistema de túneles. En total, se capturaron y grabaron 20 individuos, pero tres grabaciones fueron descartadas por no poder ser identificado fehacientemente el individuo que las produjo: en primer lugar, un macho y luego dos hembras, fueron capturados en el mismo sistema de túneles; en segundo lugar, una hembra y luego un macho fueron capturados en el mismo sistema de túneles, y en tercer lugar, se capturó un macho, pero no fue posible capturar el otro individuo ocupante del mismo sistema de túneles.

Caracterización acústica de las vocalizaciones de larga distancia

Todas las mediciones acústicas se hicieron con el programa Raven Pro 1.4 (<http://www.birds.cornell.edu/raven>) utilizando los siguientes parámetros de espectrograma: Window–Type: Hann; Size: 512 samples (=10.7 ms); 3dB FilterBandwidth: 135 Hz; Time grid Overlap: 50 %; Hop size: 256 samples (=5.33 ms); Frequency grid–DFT size: 4096 samples; Grid spacing: 11.7 Hz. Todas las grabaciones fueron filtradas en Raven Pro 1.4 utilizando un bandpass filter entre 80-5000Hz para eliminar las fuentes de perturbación y distorsión en las mediciones acústicas.

Se delimitaron manualmente a lo largo del eje de tiempo los bordes de selección en el oscilograma en los puntos donde este alcanzaba los valores mínimos de energía y a su vez, donde cambiaba el patrón repetitivo general; esto permitió delimitar tres tipos mínimos de sonido en la vocalización (nota de la serie, nota suave y nota individual; (Figura 4). Utilizando estas selecciones se midió: la duración 90% (ver Apéndice 1) de cuatro segmentos delimitados en el tiempo (notas de la serie, notas suaves, series, y notas individuales); la duración de los silencios entre la duración 90% de las serie y entre notas individuales; el pico de frecuencia, el ancho de banda intercuartil, y el ancho de banda 90% (ver Apéndice 1) de las notas de la serie, notas suaves y notas individuales (Figura 4). Las mediciones temporales fueron realizadas a lo largo del total de la grabación, mientras que las mediciones espectrales fueron obtenidas a partir de 10 notas de la serie y 10 notas suaves de las series de tríadas y 10 notas individuales por individuo (Figura 4). Se eligieron las series de tríadas para analizar cuantitativamente las notas de la serie y las notas suaves, ya que las tríadas son el tipo de serie más común y característica de esta especie. Se obtuvieron mediciones acústicas de una vocalización por cada individuo registrado a campo.

Para que las mediciones acústicas de diferentes sonidos sean comparables, es apropiado elegir un determinado umbral de estandarización. Los valores de energía por debajo del umbral de estandarización elegido se descartan, y todo lo que está por encima de este se convierte en la señal de interés. Esto idealmente da como resultado la inclusión de la misma cantidad de energía relativa por debajo del pico de frecuencia (para mediciones de frecuencia) o por debajo del pico de amplitud de la envolvente del oscilograma (para mediciones de tiempo), independientemente de las diferencias de amplitud en las grabaciones de sonidos idénticos que hayan sido grabados a diferentes

distancias. Sin embargo, dado que muchas de las grabaciones tenían una baja proporción señal-ruido, se hicieron comparables las mediciones utilizando valores de pico de frecuencia y medidas de tendencia central en tiempo y frecuencia para cada selección, a expensas de perder su contenido de información. Los valores de pico de frecuencia no están influenciados por la selección de un umbral de la estandarización, ya que por definición, son los picos de frecuencia los que se utilizan para establecer un umbral. Las mediciones de tendencia central son robustas a las diferencias en amplitud relativa entre los sonidos que se comparan y se basan en umbrales internos de energía acumulada. Los resultados obtenidos serán especialmente robustos si la energía se concentra en una banda relativamente estrecha en donde las frecuencias son atenuadas de manera similar por el medio a través del cual viajan los sonidos antes de grabarse. Mediante el uso de valores de pico de frecuencia y las medidas de tendencia central se elude el problema de hacer las mediciones comparables en grabaciones con mala relación señal-ruido. Si bien esto implica pérdida de la capacidad de obtener algunas medidas comparables (por ejemplo, frecuencia mínima y máxima), permite caracterizar adecuadamente la señal de interés.

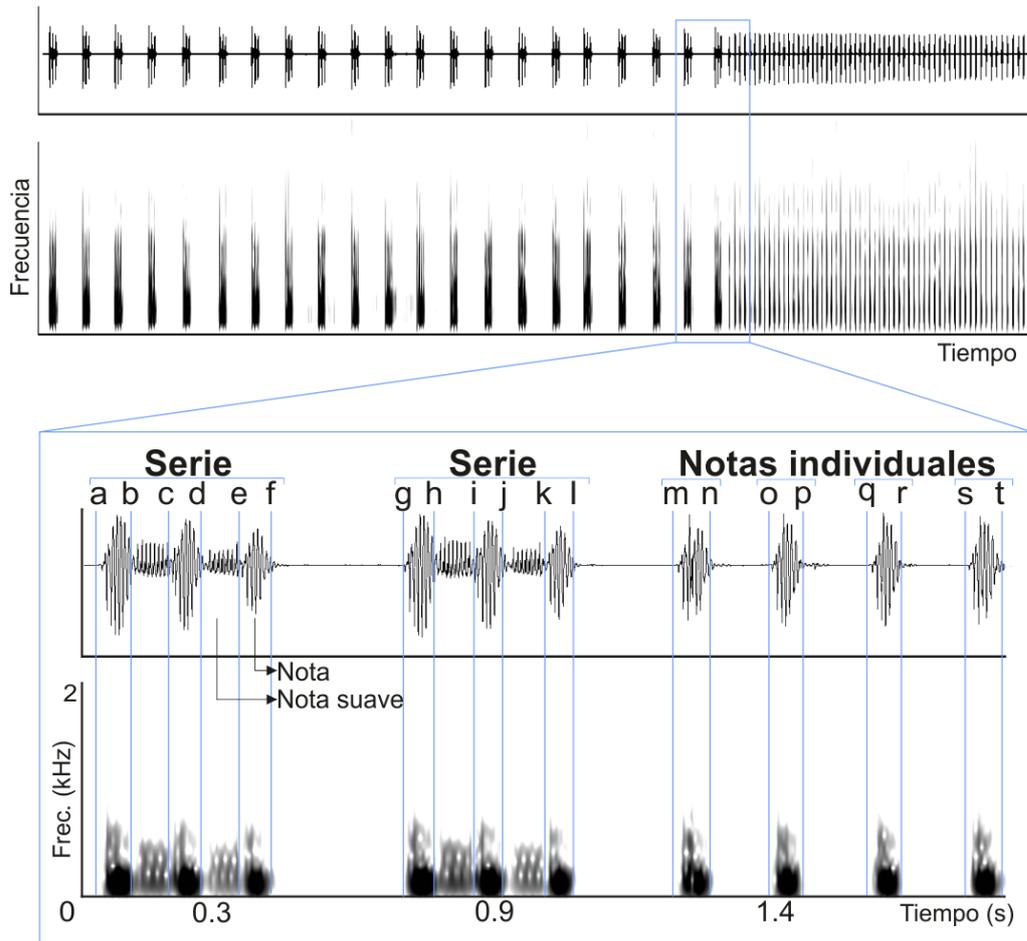


Figura 4. Oscilograma (arriba) y espectrograma (abajo) donde se indica la delimitación manual sobre el eje temporal, de las sílabas y los silencios, utilizada para el análisis de la vocalización de larga-distancia del Tuco-Tuco de Anillaco: Nota de la serie (a-b, c-d, e-f, g-h, i-j, k-l); nota suave (b-c, d-e, h-i, j-k); serie (a-f, g-l); silencio entre series (f-g); notas individuales (m-n, o-p, q-r, s-t); silencio entre notas individuales (n-o, p-q, r-s).

Correlación entre valores de pico de frecuencia de vocalizaciones de larga distancia y la masa corporal

Para determinar si el pico de frecuencia de la vocalización de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco está influenciado por la masa corporal de los individuos, se realizaron pruebas de correlación de Pearson para evaluar la relación entre la media del pico de frecuencia de las notas en tríadas y las notas individuales con el peso de los individuos machos (N =14). Las hembras no fueron incluidas en este análisis, ya que podrían sesgar positivamente esta correlación debido a su peso significativamente más bajo y a

los valores medios de pico de frecuencia mayores que los de los machos. Debido al pequeño tamaño de muestra de las vocalizaciones de las hembras (N = 3), no fue posible llevar a cabo estos análisis por separado en las mismas.

Se realizó un ANOVA para evaluar la diferencia entre el peso de los individuos macho y hembra.

Contexto de la vocalización de larga distancia en estudios de laboratorio

Para conocer el contexto comportamental asociado a la producción de la vocalización de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco, se diseñaron encuentros experimentales en laboratorio entre individuos de ambos sexos. Todos los encuentros se llevaron a cabo durante junio-septiembre de 2014, 2015 y 2016, coincidiendo con la época reproductiva para esta especie (Valentinuzzi, comunicación personal). Cinco machos adultos y siete hembras adultas del Tuco-Tuco de Anillaco fueron capturados (ver página 8) y colocados en el sistema de túneles artificiales (ver pag 19, [Figura 3](#)). Los individuos utilizados para este experimento fueron diferentes a los grabados y capturados para el análisis general de la vocalización de larga distancia a campo. Las vocalizaciones de larga distancia fueron registradas con una grabadora digital Zoom h4n (frecuencia de muestreo de 44,1 kHz y 24 bits de profundidad) y el comportamiento de los individuos fue registrado simultáneamente con una cámara de vídeo digital (Nikon D5100). A partir de estos registros de audio y vídeo de las interacciones comportamentales, se pudo caracterizar los contextos en donde se produjeron las vocalizaciones de larga distancia.

Las observaciones y grabaciones comenzaron al menos una semana después de que los individuos hubieran sido colocados en el sistema artificial de túneles, lo que permitió la aclimatación y el establecimiento del territorio en el sistema artificial de túneles. Para observar el comportamiento y registrar los sonidos asociados se diseñaron encuentros de 20-40 minutos entre individuos, permitiendo el contacto entre los individuos de acuerdo a las necesidades experimentales abriendo y cerrando las puertas metálicas de cada recinto.

Los individuos experimentales en 2014 fueron dos machos; macho A (267 g) y macho B (168 g) y dos hembras; hembra C (140 g) y hembra D(160 g), en 2015 los mismos dos machos; macho A (274 g) y macho B (220), y dos hembras; hembra C (160

g) y hembra E (110 g), y en 2016 tres machos; macho F (144 g), macho G (177 g) y macho H (170 g) y cuatro hembras; hembra I (165 g), hembra J (137) hembra K (133 g) y hembra L (125 g). En total realizamos 97 encuentros distribuidos en tres tipos de encuentro: 1) macho-macho, 2) hembra-hembra y 3) macho-hembra (Tabla 1).

Se caracterizó el comportamiento de los individuos durante los encuentros analizando las grabaciones de vídeo. Se analizó el comportamiento en: 19 encuentros macho-macho con vocalizaciones (15 encuentros con vocalizaciones de larga distancia; y 4 con las vocalizaciones de corta distancia); 5 encuentros macho hembra (todos con vocalizaciones de larga distancia y corta distancia); y 1 encuentro hembra-hembra (con vocalización de larga distancia).

Se analizaron 10 minutos por encuentro que fueron seleccionados en base a la intensidad de las interacciones y a la presencia de las vocalizaciones de larga distancia. Para cada encuentro, determinamos un punto de muestra instantánea cada 15 segundos (40 puntos de muestreo por encuentro) en el que se categorizó el comportamiento instantáneo de los individuos en tres categorías.

En orden decreciente de nivel de agresión, determinamos un comportamiento (**Agresión**) y dos categorías de espacialidad (**Contacto e Independencia**).

- 1. Agresión:** individuos peleando (individuos mordiéndose entre sí); o individuos a una distancia inferior a la longitud del cuerpo con comportamiento agresivo (individuos cerca con las bocas abiertas exponiendo los dientes incisivos).
- 2. Contacto:** individuos en contacto o a una distancia inferior a la longitud del cuerpo sin comportamiento agresivo (individuos se acercaron para olfatear, montar o entrar en contacto físico).
- 3. Independencia:** individuos a una distancia mayor que la longitud del cuerpo (individuos alimentándose, auto-acicalando, descansando, cavando o se mantuvieron alejados luego de una interacción agresiva).

Se calcularon y compararon los porcentajes de muestras instantáneas en que se produjo cada comportamiento por encuentro y compare estas proporciones entre los tres tipos de encuentros (macho-macho; hembra-hembra; macho-hembra).

	Tipo de encuentro		
	Macho-Macho	Macho-hembra	Hembra-hembra
Individuos en cada tipo de encuentro (n° de encuentros)	A-B (5)	A-C (7)	C-D (3)
	F-H (6)	A-D (5)	C-E (2)
	F-G (5)	A-E (6)	D-E (2)
	G-H (3)	B-C (6)	I-J (3)
		B-D (5)	I-K (2)
		B-E (3)	I-L (2)
		F-J (3)	K-J (3)
		F-I (3)	K-L (2)
		F-K (2)	L-J (2)
		G-J (3)	
		G-I (3)	
		G-K (2)	
		H-J (2)	
		H-I (3)	
		H-K (1)	

Tabla 1. Tipos de encuentros entre individuos del Tuco-Tuco de Anillaco durante los experimentos en laboratorio: encuentros macho-macho; macho-hembra; y hembra-hembra. Las letras mayúsculas indican los individuos usados para cada tipo de encuentro y los números entre paréntesis indican la cantidad de encuentros realizados entre los mismos individuos.

Resultados

Descripción de la vocalización de larga distancia

La vocalización de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco fue de alta intensidad, banda ancha y baja frecuencia. La vocalización se compuso de dos tipos de sílabas: las series y las notas individuales (Figuras 4 y 5; Tabla 2). Los dos tipos de sílabas se repitieron un variable número de veces en cada vocalización estableciendo muchos patrones de vocalización diferentes (Figura 6 y 7). El único patrón sintáctico general identificado fue que las series siempre precedieron a las notas individuales ((Figura 6 y 7). Todas las vocalizaciones (n = 14 machos y 3 hembras) estuvieron compuestas por series y notas individuales, excepto tres vocalizaciones de machos que estuvieron compuestas solo por series (Figura 7). Para ambos sexos, los silencios entre las series

fueron considerablemente más largo que los silencios entre las notas individuales (machos: $1,150 \pm 468$ ms, $n = 598$ frente a 180 ± 45 ms, $n = 970$; hembras: $1,075 \pm 222$ ms, $n = 59$ frente a 214 ± 28 ms, $n = 221$).

Las series estuvieron compuestas por dos sonidos, las notas y las notas suaves. Comparativamente, las notas fueron de mayor amplitud y menor frecuencia que las notas suaves (Figura 5). Las notas suaves siempre fueron producidas en el medio de dos notas. Dependiendo del número de notas y notas suaves que integraron una serie, se identificaron tres tipos de serie: a) **diadas**, compuestas por dos notas y una nota suave, b) **tríadas** compuestas por tres notas y dos notas suaves, y c) **tétradas**, compuestas por cuatro notas y tres notas suaves (Figura 5).

Las tríadas fueron el tipo de series más común para ambos sexos (machos: 80,4% $n = 517$; hembras: 88,8% $n = 56$), seguido de las diadas (machos: 14,9% $n = 96$; hembras: 11,1% $n = 7$), mientras que las tétradas fueron producidas solamente por machos (4,2%, $n = 30$). En contraste con las series, las notas individuales solo estuvieron compuestas por notas (es decir, no se registraron notas suaves).

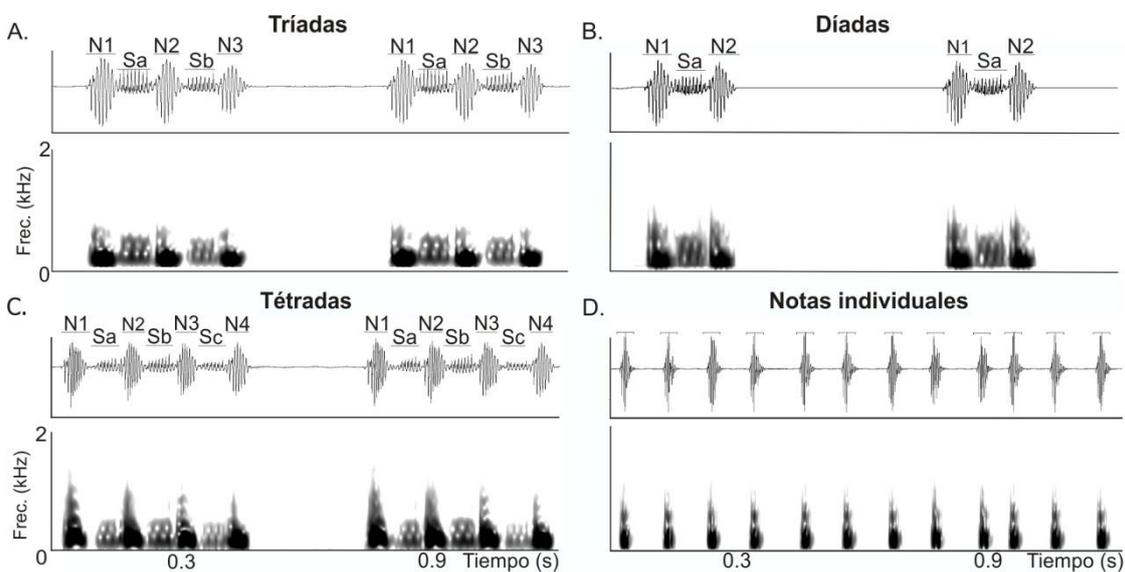


Figura 5. Oscilograma (arriba) y espectrograma (abajo) de los tipos de sílabas (tres tipos de series y notas individuales) de las vocalizaciones de larga distancia del Tuco-tuco de Anillaco. A. Series de tríadas (Audio 1, Apéndice 3). B. Series de diadas (Audio 2, Apéndice 3) (Audio 2). C. Series de tétradas (Audio 3, Apéndice 3). D. Notas individuales (Audio 4, Apéndice 3) (N-nota de la serie; S-nota suave de la serie).

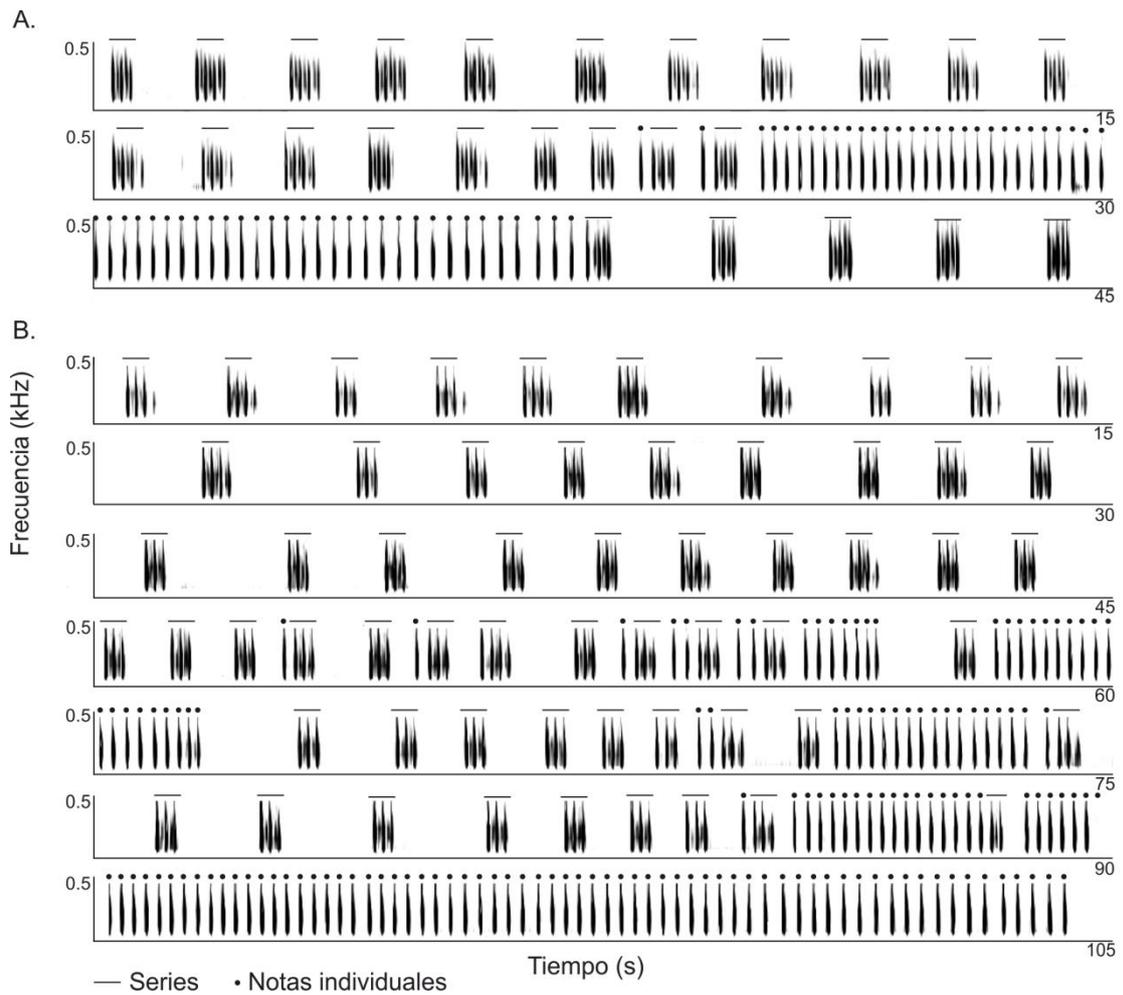


Figura 6. Espectrogramas de dos grabaciones completas de la vocalización de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco. Se muestra la variación en la estructura temporal de la vocalización. A. vocalización de larga distancia del individuo 9 (Figura 7) (Audio 5, Apéndice 3). B. vocalización de larga distancia del individuo 12 (Figura 7) (Audio 6, Apéndice 3).

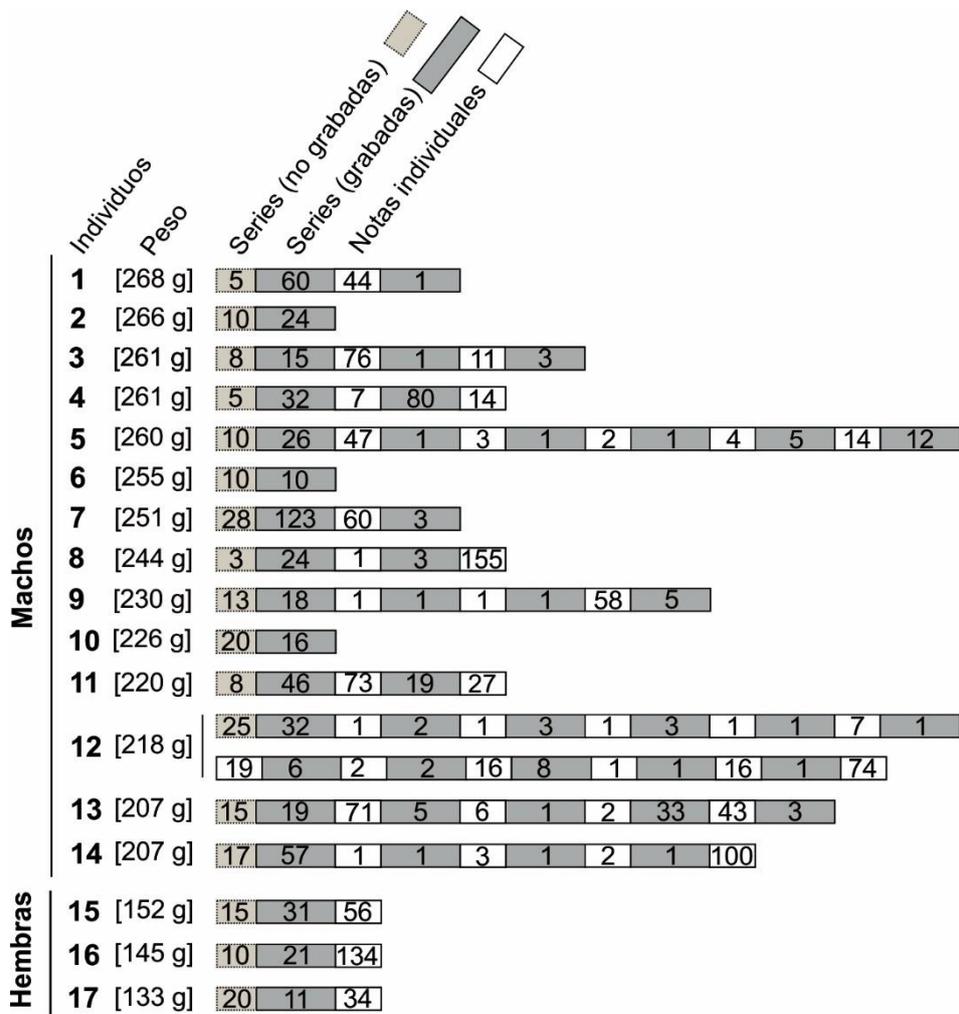


Figura 7. Representación esquemática del número de series y las notas individuales de las vocalizaciones de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco registradas a campo. Cada esquema está precedido por el número de individuo, el peso del mismo en el momento de la grabación (entre corchetes) y la cantidad de series sin grabar (rectángulo punteado). Cada esquema corresponde a una sola grabación. Rectángulos grises representan (x) número de serie (es decir, díada, tríada o tétrada) y los rectángulos blancos representan un el número (x) de notas individuales.

Tabla 2. Mediciones acústicas de las notas y notas suaves de la serie de tríadas y de las notas individuales de la vocalización de larga distancia en ambos sexos del Tuco-Tuco de Anillaco.

Parámetro	Series (Tríada)										Notas individuales	
	Nota 1		Nota suave a		Nota 2		Nota suave b		Nota 3		Macho	Hembra
	Macho	Hembra										
Picoda frecuencia. (Hz)	185,2±25,7 (128,9-246,1)	271,8±10,8 (246,1-293)	221,9±64,1 (105,5-480,5)	204,6±42,6 (128,9-293)	181,4±22,9 (128,9-234,4)	254,7±12,3 (222,7-281,2)	227,6±57,6 (117,2-363,3)	212±33,5 (164,1-293)	168,9±23,6 (128,9-257,8)	223±15,8 (187,5-246,1)	168±20,16 (128,9-222,7)	257,4±12,5 (234,4-281,2)
Ancho de banda RIQ (Hz)	90,7±16,8 (70,3-164,1)	109,3±20,7 (93,7-175,8)	149,0±40,0 (82,1-257,8)	152,7±33,0 (128,9-175,8)	93,1±20,02 (70,3-164,1)	114,0±42,5 (82-257,8)	142,5±32,9 (93,7-222,6)	160,4±28,9 (128,9-218,3)	94,1±19,9 (46,9-152,4)	100,7±27,2 (82-222,7)	95,7±24,1 (70,3-175,8)	101,5±15,5 (82-140,6)
Ancho de banda 90% (Hz)	263,8±65,5 (187,5-398,4)	389,8±39,6 (316,4-445,3)	381,4±41,7 (234,4-457)	412,1±22,3 (351,6-457)	254,0±56,7 (187,5-398,4)	346,0±57,8 (222,7-445,3)	369,6±41,5 (257,8-527,3)	411,4±45,9 (339,8-503,9)	256,1±56,7 (140,6-421,9)	318,3±46,1 (199,2-375)	264,6±60,6 (187,5-433,6)	346,8±79,8 (210,9-445,3)
1° cuartil de fr. (Hz)	148,4±25,0 (93,8-199,2)	208,2±25,1 (140,6-246,1)	165,7±42,2 (70,3-246,1)	145,0±16,9 (117,2-187,5)	138,1±21,3 (93,8-175,8)	195,4±15,3 (140,6-222,7)	165,2±42,7 (58,6-246,1)	151,9±22,9 (117,2-222,7)	125,9±18,2 (82-164,1)	174,5±14,3 (140,6-187,5)	131,0±18,9 (93,8-164,1)	201,5±9,9 (187,5-222,7)
3° cuartil de fr. (Hz)	239,2±31,6 (175,8-316,4)	317,5±28,0 (293-410,2)	314,8±54,3 (175,8-468,8)	303,0±25,5 (246,1-339,8)	231,2±30,6 (164,1-316,4)	296,4±24,4 (257,8-363,3)	307,7±44,2 (199,2-410,2)	309,9±43,4 (246,1-492,2)	220,1±31,5 (128,9-304,7)	263,6±27,9 (152,3-304,7)	226,8±35,7 (175,8-328,1)	303,1±24,1 (269,5-363,3)
Frecuencia 5% (Hz)	92,2±22,8 (46,9-140,6)	157,0±8,5 (140,6-175,8)	88,9±28,7 (35,2-164,1)	69,2±13,1 (46,9-93,8)	83,5±18,8 (46,9-117,2)	138,6±7,5 (128,9-152,3)	90,8±33,1 (35,2-164,1)	62,5±19,6 (23,4-93,8)	70,3±16,2 (35,2-105,5)	116,0±16,9 (58,6-140,6)	71,7±16,4 (35,2-105,5)	121,6±39,3 (23,4-152,3)
Duración 90% (ms)	33±5 (26-46)	36±5 (27-48)	61±19 (32-128)	74±15 (53-112)	32±5 (21-58)	36±6 (26-53)	61±18 (37-118)	66±12 (48-96)	33±5 (21-48)	33±7 (21-53)	33±5 (21-48)	38±4 (32-48)
N	140	30	140	30	140	30	140	30	140	30	110	30

Pico de frecuencia en relación al peso de los individuos

Los machos fueron notablemente más pesados que las hembras ($241 \pm 22,2$ g vs. $143,3 \pm 9,6$ g; $p < 0,001$). Los picos de frecuencia de las notas de las tríadas y las notas individuales de los machos tuvieron valores significativamente menores que las hembras (Tabla 2); no hubo superposición de media \pm desviación estándar en el pico de frecuencia en machos y hembras. Sin embargo, los valores medios del pico de frecuencia de las notas suaves se superponen en ambos sexos (Tabla 2).

No se encontró correlación entre el peso corporal de los machos y los valores medios del pico de frecuencia de las notas de las tríadas, así como tampoco con los valores medios de las notas individuales (pruebas de correlación de Pearson: $p = 0,75$ $r = 0,08$ para la nota 1; $p = 0,88$ $r = -0,05$ para la nota 2; $p = 0,12$ $r = -0,43$ para la nota 3; y $p = 0,95$ $r = -0,02$ para las notas individuales).

Contexto comportamental en cautiverio

Las vocalizaciones de larga distancia se registraron 43 veces en 21 de los 97 encuentros designados entre los individuos en cautiverio. Todas las vocalizaciones fueron emitidas por los machos, a excepción de una sola vocalización que fue emitida por una hembra (Figura 8 y 9). La probabilidad de que un encuentro designado resultara en una vocalización de larga distancia (PV) difirió en función del tipo de encuentro (Figura 8 y 9). La gran mayoría de los encuentros macho-macho (68,2% de 22) resultaron en la producción de vocalizaciones de larga distancia que se produjeron 36 veces; por el contrario, sólo el 9,2% de 54 encuentros macho-hembra resultó en 6 vocalizaciones de larga distancia y sólo el 4,7% de 21 encuentros hembra-hembra resultó en una vocalización de larga distancia (Figura 8 y 9). El número de vocalizaciones por encuentro designado (VED) y por el encuentro vocal (VEV) fueron mayores en los encuentros macho-macho, que los macho-hembra y hembra-hembra (Figura 8).

El comportamiento de los individuos durante los encuentros con vocalizaciones de larga distancia dependió del tipo de encuentro (Figura 8). Los machos tendieron a mantenerse alejados de otros machos o, con menor frecuencia, a atacar: los encuentros macho-macho

exhibieron significativamente más agresividad e independencia, y mucho menos comportamiento de contacto que otros tipos de encuentros (Figura 8 y 9). Los machos y las hembras tendieron a permanecer juntos sin conflicto: encuentros macho-hembra dieron como resultado significativamente más tiempo en contacto que en comportamientos de independencia, y exhibieron una cantidad mínima de agresión (Figura 8 y 9). El encuentro hembra-hembra mostró un patrón similar al de los encuentros entre machos y hembras (Figura 8 y 9).

Las vocalizaciones de larga distancia dieron como resultado una atenuación el 60,5% de las veces, 37% en un comportamiento neutro y 2,5% en escalada (Tabla 3). El comportamiento más frecuente exhibido después de una vocalización de larga distancia fue la independencia, que se produjo en el 88,4% (38/43) de los encuentros vocales, con predominio de agresión-independencia (n=22) e independencia-independencia (n=15) (Tabla 3). Los encuentros vocales macho-macho fueron dominados por las transiciones atenuación (55%) y neutras (41,5%), mientras que los encuentros vocales macho-hembra fueron dominados por las transiciones atenuación (83%) (Tabla 3).

Los encuentros vocales macho-hembra se caracterizaron por la producción de una vocalización suave emitida por los machos. Esta vocalización de "cortejo" siempre precedió a la producción de la vocalización de larga distancia producida por los machos, y parecía estar restringida a comunicaciones de corta distancia entre los individuos. Curiosamente, en los primeros encuentros macho-macho (A-B, F-G, G-H y F-H), estos intentaron cortejarse entre sí, produciendo breves vocalizaciones de "cortejo" (Figura 9). Sin embargo, este comportamiento se prolongó durante unos momentos y luego fue seguido por las interacciones agresivas. Luego, no se produjeron vocalizaciones de "cortejo" durante los encuentros posteriores. El hecho de que los machos cortejaran brevemente a otros machos (como si estos últimos eran hembras) durante sus primeros encuentros, sugiere que la determinación del sexo entre los individuos requiere de una aproximación cercana. Los primeros encuentros macho-macho parecían dar lugar al reconocimiento del sexo, lo que indica que los encuentros posteriores fueron verdaderamente representativos de las interacciones entre machos. Por lo tanto, lo que podría

parecer a primera vista un caso de pseudoreplicación, se convierte en una importante herramienta que muestra la necesidad de un contacto previo entre los individuos para determinar su comportamiento sexo-específico.

En síntesis, los machos produjeron vocalizaciones de larga distancia proporcionalmente en más encuentros y un mayor número de veces por encuentro cuando se enfrentaron a otro macho que cuando se enfrentaron a una hembra, mientras que las hembras nunca produjeron vocalizaciones de larga distancia en los encuentros entre macho-hembra y solo una sola vez en encuentros hembra-hembra. Mientras que los encuentros entre machos fueron típicamente más agresivos, los encuentros entre macho-hembra parecieron resultar en un comportamiento de cortejo.

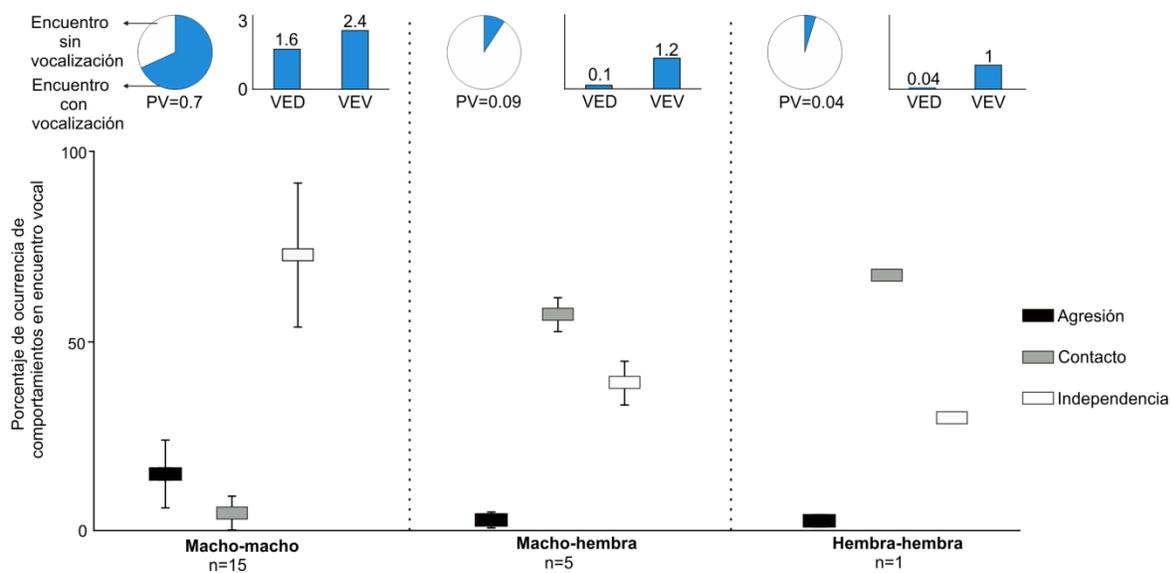


Figura 8. Comportamiento de los individuos del Tuco-Tuco de Anillaco durante los encuentros macho-macho, macho-hembra y hembra-hembra diseñados en laboratorio. Gráficos de torta mostrando la proporción de encuentros con vocalización de larga distancia y la probabilidad de vocalizaciones por encuentro, y gráficos de barras indicando el número de VED y el número de VEV. B. Media±desvío estándar del porcentaje de ocurrencia de cada comportamiento (Agresión, Contacto e Independencia) por tipo de encuentro.

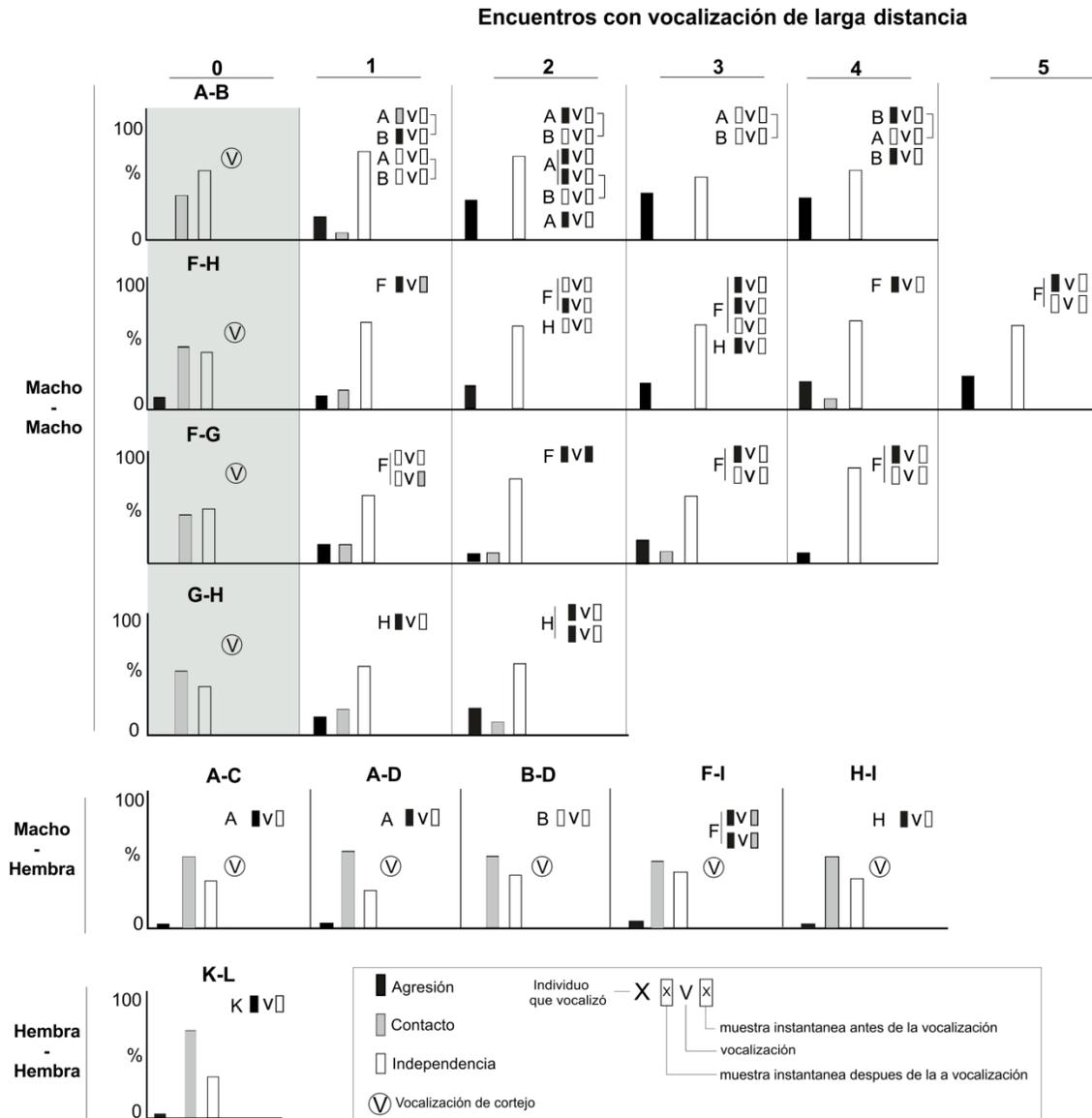


Figura 9. Comportamiento de los individuos del Tuco-Tuco de Anillaco durante los encuentros diseñados en laboratorio con vocalizaciones. Los encuentros con la vocalización de larga distancia (fondo blanco) y el primer encuentro macho-macho con la vocalización de cortejo (fondo gris). Las barras indican el porcentaje de ocurrencia de cada comportamiento (Agresividad, Contacto e Independencia) por encuentro.

Tabla 3. Número de transiciones entre los tres comportamientos (Agresión, Contacto e Independencia) durante los encuentros diseñados macho-macho, macho-hembra y hembra-hembra del Tuco-Tuco de Anillaco.

Comportamiento antes y después de una vocalización de larga distancia									
Tipo de encuentro	Atenuación			Escalada			Neutro		
	A-C	A-I	C-I	C-A	I-A	I-C	A-A	C-C	I-I
Macho-Macho	1	18	1	0	0	1	1	0	14
Macho-Hembra	2	3	0	0	0	0	0	0	1
Hembra-Hembra	0	1	0	0	0	0	0	0	0

Discusión

Generalidades

En este capítulo se muestra que las vocalizaciones de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco son sonidos largos, de baja frecuencia, de banda ancha y alta intensidad, compuestas por la repetición de dos tipos de sílabas: las series (formadas por dos a cuatro notas y una a tres notas suaves) y las notas individuales. Todas las vocalizaciones se iniciaron con las series, pero no todas tuvieron notas individuales, y la disposición y el número de sílabas fueron muy variables, sin presentar ningún patrón consistente. A su vez, estas vocalizaciones presentaron dimorfismo sexual y en su mayoría fueron producidas por machos y rara vez por las hembras en condiciones naturales. Las características acústicas fueron independientes de la masa corporal en los machos, mientras no fue posible realizar esta evaluación en hembras debido al reducido tamaño de la muestra. Los resultados de los encuentros designados entre individuos en cautiverio sugieren que las vocalizaciones de larga distancia se producen principalmente entre los machos y se asocian principalmente con contextos agonísticos; sin embargo, se necesitan estudios futuros utilizando un mayor número de individuos para determinar la generalidad de este patrón.

Comparación con otras especies de *Ctenomys*

Dos patrones de vocalizaciones de larga distancia han sido reconocidos en *Ctenomys*: Tipo I y Tipo II (Francescoli & Quirici 2010). En el Tipo I, las vocalizaciones exhiben dos segmentos sucesivos (Parte 1 y Parte 2), cada uno formado por los elementos que se repiten un variable número de veces, conformando un único patrón predecible, mientras que las vocalizaciones de Tipo II, tienden a estar conformadas por un menor número de elementos y se producen en un lapso más corto. Las descripciones de las vocalizaciones de larga distancia de *C. talarum* concuerda con la definición de Tipo I (Schleich & Busch 2002a), mientras que las de *C. pearsoni* concuerdan con la definición de Tipo II (Francescoli & Quirici, 2010). A grandes rasgos, la estructura general de la vocalización de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco se asemeja al patrón Tipo I. Sin embargo, los patrones sintácticos impredecibles y variables que se encuentran en los machos (Figura 7) no se acomodan de manera sencilla a las dos partes que conforman el patrón Tipo 1. La aparición de patrones sintácticos añade una nueva dimensión a la caracterización estructural de los patrones vocales en *Ctenomys* que nunca se ha explorado en ninguna especie del género.

Los tres tipos de series (díadas, tríadas y tétradas) que se encuentran en el Tuco-Tuco de Anillaco son estructuras complejas compuestas por notas y notas suaves. Estas últimas no han sido reportadas con anterioridad en la literatura, y su descripción representa otro aspecto nuevo de la comunicación vocal en *Ctenomys*. Sin embargo, las notas suaves parecen estar presentes en otras especies del género. Por ejemplo, la nota de *C. talarum* (sensu Schleich y Busch 2002a) consiste en un sonido que se asemeja a las notas de la serie que es seguido por un sonido más suave que puede ser homologable con la nota suave identificada en el Tuco-Tuco de Anillaco, mientras que las típicas díadas de *C. mendocinus* incluyen una nota suave insertada entre las dos notas (Amaya & Areta datos no publ.).

Las notas suaves difieren de las notas de la serie, ya que tienen diferentes parámetros espectrales y tienen valores relativos de energía notablemente inferior. Es importante destacar que las notas suaves no son simplemente reverberaciones de las notas de la serie.

Específicamente, a) se registraron algunas vocalizaciones anormales en las que las notas suaves ocurrieron antes de la primera nota de una serie, b) se registró una serie compuesta sólo por notas suaves, y c) las notas suaves no están presentes en las notas individuales, como era de esperar si las primeras fueran simplemente reverberaciones de estas últimas. Por lo tanto, se propone la hipótesis de que las notas suaves son un componente distintivo pero hasta el momento pasado por alto en las vocalizaciones larga distancia de muchas especies de *Ctenomys*.

Complejidad en las vocalizaciones

Nuestros análisis de los elementos estructurales de las vocalizaciones de larga distancia en Tuco-Tuco de Anillaco revelaron una inesperada complejidad en sus vocalizaciones. La variación pronunciada entre los individuos en relación con el número de series, la existencia de tres tipos de series (díadas, tríadas y tétradas), y el variable número de notas individuales generó vocalizaciones con una colección diversa de patrones sintácticos que podrían proporcionar a estas vocalizaciones, la oportunidad de codificar múltiples tipos de información. Esto proporciona la primera evidencia que apoya la hipótesis de que la información importante en las vocalizaciones de larga distancia se codifica en el patrón rítmico (Francescoli 2000, 2011). Las características vocales tales como la frecuencia máxima de la serie de notas y notas individuales y patrones sintácticos fueron sexualmente dimórficos, proporcionando una dimensión adicional de variabilidad en las vocalizaciones de larga distancia de *Ctenomys*. Futuros estudios experimentales diseñados para determinar qué tipo de información se transmite en las vocalizaciones de larga distancia y la forma en que la información se codifica mejorará sustancialmente nuestra comprensión de la comunicación dentro del género *Ctenomys*.

Importancia funcional de las vocalizaciones de larga distancia

En general, se ha sugerido que las vocalizaciones de larga distancia en *Ctenomys* facilitan el mantenimiento de los territorios individuales debido a su alta intensidad (Francescoli 1999) y su

estructura, en particular, su baja frecuencia y larga duración, los cuales se consideran características del diseño típico de las vocalizaciones territoriales de mamíferos (Schleich & Busch 2002a). La territorialidad puede producirse por varias razones, incluyendo la defensa de recursos como alimentos y refugio o competencia por parejas reproductoras (Holzmann et al. 2012). En cautividad, las vocalizaciones de larga distancia en *C. talarum* se producen principalmente por los machos en contextos agonistas, lo que lleva a la conclusión de que estas vocalizaciones se asocian con la competencia entre machos por hembras reproductoras (Zenuto 1999; Schleich & Busch 2002a).

Varias líneas de evidencia sugieren que las vocalizaciones de larga distancia en el Tuco-Tuco de Anillaco son señales territoriales para reducir al mínimo los encuentros agresivos, especialmente entre los machos. En primer lugar, la emisión de vocalizaciones de larga distancia resultó en una atenuación o mantenimiento del espacio en los encuentros macho-macho y macho-hembra. En segundo lugar, estas vocalizaciones son producidas con mayor frecuencia (en el campo y en el laboratorio) por los machos en la población de estudio. En tercer lugar, los machos producen vocalizaciones de larga distancia con mayor frecuencia durante los encuentros macho-macho en comparación con los encuentros entre macho-hembra. Por último, los machos de la población de estudio parecen tener mayor área de acción y estar más espacialmente segregados que las hembras (Lacey et al. en preparación), lo que sugiere que los machos pueden tener una mayor necesidad de anunciar su presencia en el hábitat utilizando vocalizaciones de larga distancia. Apoyando a esta idea, las hembras del Tuco-Tuco de Anillaco produjeron menos vocalizaciones de larga distancia que los machos. Debido a su aparente rareza, la función y las características acústicas de las vocalizaciones de larga distancia de las hembras del Tuco-Tuco de Anillaco siguen siendo insuficientemente conocidas.

Futuros estudios comparativos de las vocalizaciones de larga distancia en *Ctenomys* beneficiarán los esfuerzos para relacionar las características acústicas y emisión de estas vocalizaciones con los contextos ecológicos y de comportamiento en que se producen, además arrojarán luz sobre la evolución de la compleja comunicación vocal en la radiación neotropical de roedores subterráneos.

Capítulo 2: Desarrollo ontogenético de la vocalización de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco

Introducción

Al igual que otros aspectos de los organismos, las vocalizaciones experimentan cambios durante la ontogenia. Las vocalizaciones en las primeras instancias de vida son diferentes a las de los adultos y en algunos casos es posible seguir el desarrollo de vocalizaciones desde temprana edad hasta la edad adulta (Hammerschmidt et al. 2001; Hauser 1989; Seyfarth & Cheney 1986).

Las vocalizaciones de los individuos juveniles pueden desarrollarse hasta alcanzar las características de las vocalizaciones de los adultos de dos maneras que no son mutuamente excluyentes: por aprendizaje vocal y por maduración del aparato vocal (Janik & Slater 1997). El desarrollo de las vocalizaciones por aprendizaje vocal se define como la habilidad de un individuo juvenil de modificar sus vocalizaciones en base a un *input auditivo* (Tyack 2016), así por medio del aprendizaje vocal se pueden modificar las características acústicas de las vocalizaciones y también incorporar nuevas vocalizaciones al repertorio como resultado de la influencia de la interacción social (Janik & Slater 1997). Por otro lado, el desarrollo de las vocalizaciones puede darse por maduración del tracto vocal, generando las características acústicas de las vocalizaciones de los adultos por un programa motor innato. Esto resulta en el desarrollo normal de las vocalizaciones de adultos sin la necesidad de tener un *input auditivo* que los estimule (Tyack 2016) e implica mayormente un modelo genéticamente determinado en la producción de vocalizaciones (Winter et al. 1973). Por ejemplo, en aves y mamíferos el cambio ontogenético de las vocalizaciones inmaduras de los juveniles es inevitable debido a la maduración morfológica de la siringe y la laringe respectivamente (Würdinger 1970; Efremova et al. 2011). La falta de maduración y/o acople preciso entre la morfología y el sistema neuromuscular del aparato vocal trae aparejada la producción de vocalizaciones anormales. La adquisición de los patrones vocales adultos estereotipados y de la consistencia en las características de una misma vocalización requiere de práctica. Mediante la práctica el sistema

neuromuscular y las estructuras anatómicas se van “sintonizando”. Independientemente de si las vocalizaciones son aprendidas o no, es esperable que los juveniles produzcan una mayor proporción de vocalizaciones anormales durante sus prácticas que los adultos durante la emisión de sus “cantos” maduros (por ejemplo, el trill de *Cebus capucinus*) (Gros-Louis 2002).

El desarrollo de una vocalización puede implicar la retención de las vocalizaciones de los juveniles hasta la adultez (Campbell et al. 2014) (o la modificación de los precursores juveniles hasta alcanzar las características de los adultos (Grimsley et al. 2011). Alternativamente, las vocalizaciones adultas pueden aparecer *de novo*, es decir, sin tener precursores en los juveniles (Campbell et al. 2014).

En este capítulo, caracterizamos parte del desarrollo ontogenético de la vocalizaciones de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco (ver Amaya et al. 2016 y Capítulo 2) (Figura 10). Hasta la fecha no se realizaron trabajos del desarrollo ontogenético de la vocalización de larga distancia en ninguna especie de *Ctenomys*. Sin embargo, la existencia de vocalizaciones de larga distancia en juveniles fue mencionada en *C. talarum* (Zenuto et al. 2002) y *C. mendocinus* (Camin 2010), pero no hay información sobre los modos de desarrollo o los tiempos de desarrollo de las mismas. El objetivo de este capítulo es describir el desarrollo ontogenético de la vocalización de larga distancia en individuos juveniles del Tuco-Tuco de Anillaco aislados acústicamente de individuos adultos durante una parte de su desarrollo.

Objetivos específicos

1. Evaluar si la ontogenia de las vocalizaciones del Tuco-Tuco de Anillaco responde a un modelo de desarrollo de tipo “aprendizaje vocal” o “maduración del tracto vocal”.
2. Poner a prueba la hipótesis de que los juveniles producirán una mayor proporción de anomalías que los individuos adultos en las vocalizaciones de larga distancia.
3. Conocer si el desarrollo de los dos tipos de sílabas de las vocalizaciones de larga distancia se debe a la retención de las vocalizaciones de los juveniles hasta la adultez, a la modificación de los precursores juveniles hasta alcanzar las características de los adultos o si aparecen *de novo*.

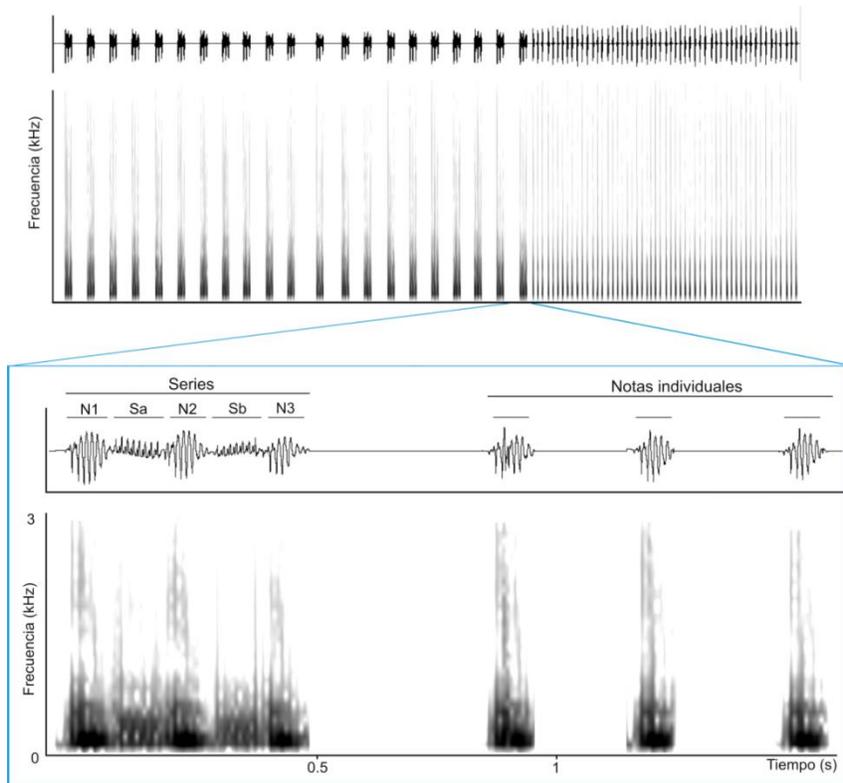


Figura 10. Estructura general (arriba) y tipos de silabas (series y notas individuales) (abajo) de la vocalización de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco. Los oscilogramas se muestran arriba y los correspondientes espectrogramas debajo en ambas figuras. La series de tríadas están compuestas por tres notas (N1, N2 y N3) y dos notas suaves (Sa y Sb); mientras que las notas individuales son sonidos simples.

Materiales y métodos

Individuos de estudio

Se estudió el desarrollo de la vocalización de larga distancia en tres machos (macho 1, macho 2 y macho 3) y dos hembras (hembra 1 y hembra 2) juveniles del Tuco-Tuco de Anillaco capturados durante los meses de noviembre y diciembre de 2013, 2014 y 2015 en los

alrededores de la localidad de Anillaco (ver página 19). Los individuos fueron pesados el mismo día que fueron capturados y luego cada 30-35 días (Tabla 4). Se estimó la edad de los juveniles del Tuco-Tuco de Anillaco en función del peso y la edad de juveniles de *C. mendocinus* (Camín 2010). Debido a que los adultos del Tuco-Tuco de Anillaco son un 10% más pesados que los adultos de *C. mendocinus*, se calculó que edades equivalentes se darían cuando los jóvenes del Tuco-Tuco de Anillaco tendrían un 10% más de peso (por ejemplo, *C. mendocinus* pesa 33 gr a los 14 días, mientras que un individuo de esta edad del Tuco-Tuco de Anillaco pesaría 36,3 gr). Mediante esta técnica, se estimó la edad absoluta de los individuos más livianos (i.e, jóvenes) como punto de partida para conocer el desarrollo vocal.

El sexado de los juveniles se realizó *a posteriori* ya que al momento de la captura, el aparato genital femenino y masculino en individuos juveniles no estaba maduro (Tabla 4).

Los individuos juveniles fueron aislados acústicamente de individuos adultos en recintos individuales en el laboratorio de Cronobiología y Comportamiento en el CRILAR (ver página 19).

Registro de vocalizaciones

Las vocalizaciones de larga distancia de los juveniles fueron registradas en sesiones de grabación independientes para cada individuo. Las sesiones de grabación se realizaron durante una semana cada cuatro semanas, comenzando en la semana 1 desde la captura del individuo y terminando en la semana 12 inclusive (salvo para el macho 3 que falleció en la semana 9). Por semana se realizaron cuatro sesiones de grabación de 4 o 6 horas en días alternos. Se utilizó una grabadora digital Zoom H4n (rango de frecuencia 0.03-20.05 kHz, frecuencia de muestreo 44.1 kHz y 24 bits de profundidad). El volumen de grabación fue constante y el mismo en todas las sesiones de grabación. La grabadora fue colocada en un trípode con los micrófonos orientados hacia el recinto donde se encontraba el individuo.

Debido a la baja tasa de emisión y a la impredecibilidad de las vocalizaciones de larga distancia, se grabó el sonido del recinto del individuo. De este modo, si el individuo vocalizaba, esta quedaría registrada. Todas las sesiones de grabación se realizaron durante la noche debido al bajo nivel de ruido ambiente que había en el laboratorio y el alto grado de actividad que tiene

esta especie en condiciones de laboratorio durante la noche (Valentinuzzi et al. 2009; Tachinardi et al. 2014). Las sesiones de grabación se realizaron entre las 22:00 y las 5:00 hs. Al día siguiente de la sesión de grabación, esta fue guardada para su posterior análisis, indicando la fecha y al individuo que pertenecía. En total se obtuvieron 480 horas de grabación (Tabla 4).

Las vocalizaciones de larga distancia fueron buscadas en las sesiones de grabación utilizando el Raven pro 1.4 (<http://www.birds.cornell.edu/Raven>). Se inspecciono visualmente el espectrograma de cada sesión de grabación (Window: Hann; size: 256 samples (= 5,8 ms); 3 dB Bandwith-filter: 248 Hz; Time grip-overlap: 50%; Hop size: 128 samples (= 2,9 ms); Frequency grid-DFT size: 256 samples; Grid spacing: 172 Hz) para distinguir las vocalizaciones de larga distancia del resto del sonido ambiente. Se utilizaron estos parámetros de espectrograma priorizando una buena resolución en tiempo para poder visualizar las vocalizaciones con mayor facilidad. Si bien este método dista de ser automático y veloz, resultó efectivo ya que permitió identificar las vocalizaciones de larga distancia con relativa facilidad.

Caracterización de las vocalizaciones

Análisis cuantitativo de las series

Tipos de series y series anormales

Se buscó en las vocalizaciones de larga distancia de juveniles los tipos de series de los adultos (Capítulo 2, ver también Amaya et al. 2016), observando en el oscilograma y espectrograma de las series el número de notas y notas suaves. Se contó el número de series por vocalización. Se identificó las series anormales en los individuos juveniles por la posición de las notas suaves con respecto a las notas. Se calculó el porcentaje de series anormales respecto al total de series. Se comparó el porcentaje de series anormales en individuos juveniles y en individuos adultos. Se Calculó el porcentaje de series anormales en adultos analizando 703 series de del Capítulo 2.

Caracterización acústica de las series

Se caracterizó acústicamente sólo las series de tríadas de los juveniles debido a que son el tipo de serie dominante en la vocalización de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco (Capítulo 2, ver también Amaya et al. 2016). En cada individuo se caracterizó una tríada por vocalización. En el macho 1 se caracterizó dos tríadas de la semana 1, tres de la semana 4, tres de la semana 8 y tres de la semana 12; en el macho 2 se caracterizó dos tríadas de la semana 1 y tres de la semana 4, dos de la semana 8 y tres de la semana 12; en el macho 3 se caracterizó dos tríadas de la semana 1, dos de la semana 4 y dos de la semana 8; en la hembra 1 se caracterizó dos tríadas de la semana 1, tres de la semana 4, tres de la semana 8 y dos de la semana 12. De cada tríada se calculó la duración 90%, el ancho de banda 90% y el pico de frecuencia (ver apéndice 2). Se calculó la duración 90% de las tríadas con una selección de 400 ms en el eje temporal y de 0-22.05 kHz en el eje de frecuencia (Figura 11 A). Se delimito cada nota en tiempo y en frecuencia, a partir de selecciones con los mayores valores de energía de la siguiente forma. Primero, se dividió la selección de 400 ms utilizada para el calcular la duración 90% en 20 selecciones de 20 ms (Figura 11 B). Sobre cada una de las 20 selecciones se calculó la energía contenida (Figura 11 A). Se definió el inicio y el final de cada nota utilizando las dos selecciones con mayor energía, y a su vez, observando el oscilograma y el espectrograma para que estas selecciones correspondan la posición de las notas en la tríada. Sobre las dos selecciones con mayor energía para cada nota, se delimito una nueva selección de 40ms en tiempo y de 0 a 22.05 kHz en frecuencia. En esta selección se calculó el ancho de banda 90% y el pico de frecuencia (Figura 11 B). Se utilizó este método de delimitación de las notas en base a la distribución de la energía, debido a que en las tríadas registradas en la semana 1 y 4, el inicio y el final de cada nota es complejo de establecer mediante la visualización del oscilograma y del espectrograma.

Se comparó las características acústicas de las tríadas de individuos juveniles con las tríadas de individuos adultos. Se analizaron tres tríadas de tres machos adultos y de tres hembras adultas (vocalizaciones tomadas del set de registros del capítulo 2). Se calculó la

duración 90%, el ancho de banda 90% y el pico de frecuencia de las tríadas de los adultos con la metodología utilizada en individuos juveniles.

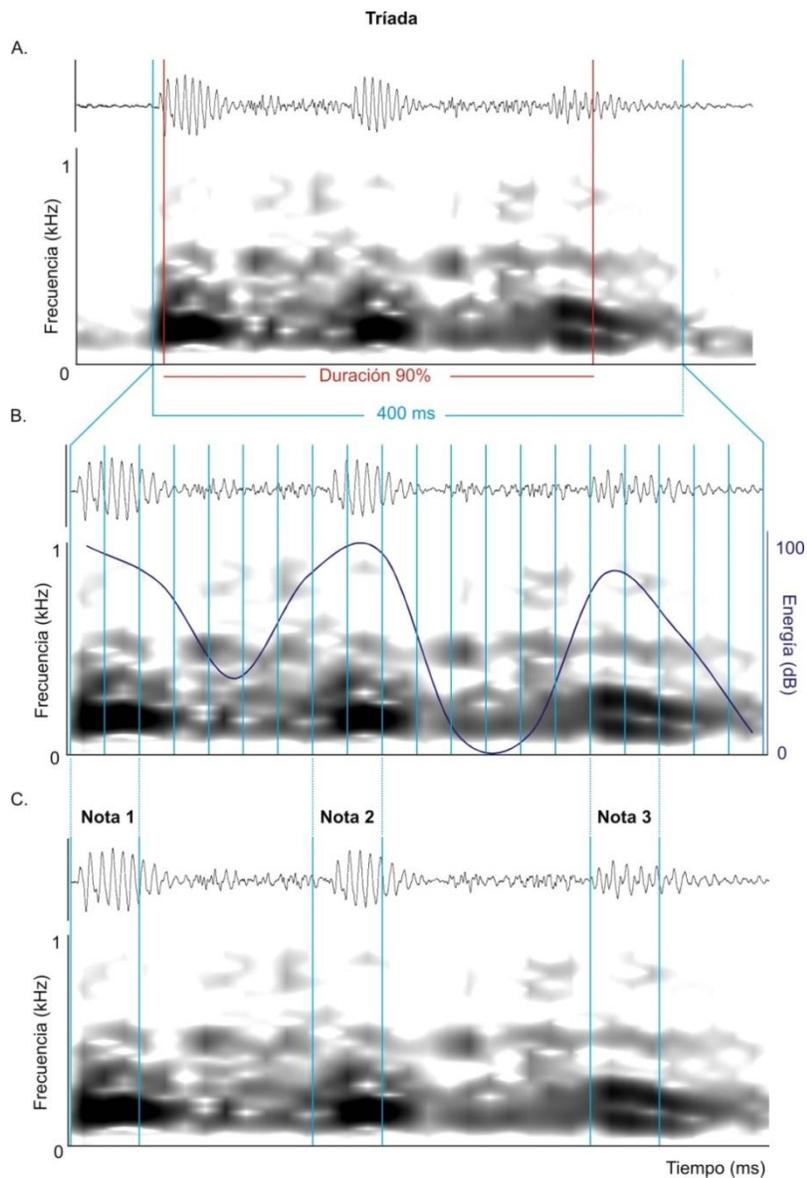


Figura 11. Método utilizado para el análisis cuantitativo de las tríadas de la vocalización de larga distancia de juveniles del Tuco-Tuco de Anillaco durante el desarrollo vocal. En cada grafico se muestra el oscilograma en la parte superior y el espectrograma en la parte inferior. **A.** Delimitación sobre el eje temporal de la tríada con una selección de 400 ms (línea celeste) sobre

el cual se calculó la duración 90% (línea roja). **B.** División de la selección de 400 ms en 20 selecciones de 20 ms en las que se calculó la energía contenida en cada selección. Los valores de energía de cada una de las 20 selecciones se muestran con una línea violeta sobre el espectrograma y el eje a la derecha del mismo. **C.** Elección de las dos selecciones con los valores más altos de energía para definir el tiempo de inicio y final de cada nota la tríada. Así, las notas de la tríada fueron delimitadas con una selección de 40 ms en tiempo y de 0-22.05 kHz en frecuencia, en la que se calculó el ancho de banda 90% y el pico de frecuencia.

Análisis cuantitativo de las notas individuales

Se contó el número de notas individuales en las vocalizaciones de los individuos juveniles.

Caracterización acústica de las notas individuales

Se calculó la duración 90%, ancho de banda 90% y pico de frecuencia de tres notas individuales del macho 1 y tres del macho 2 (ver resultados). Se delimito cada nota individual con una selección de 80 ms en el eje temporal y de 0-22.05 kHz en el eje de frecuencia (Figura 12 A) en la que se calculo la duración 90%. Se delimito cada nota individual en tiempo y en frecuencia, a partir de selecciones con los mayores valores de energía de la siguiente forma. Primero, se dividió la selección de 80 ms utilizada para el análisis de la duración 90 (Figura 12 A) en 4 selecciones de 20 ms (Figura 12 B). Sobre cada una de las 4 selecciones se calculó la energía (Figura 12 B). Se definió el inicio y el final de cada nota utilizando las dos selecciones con mayor energía. Sobre las dos selecciones correspondientes a cada nota, se delimito una nueva selección de 40 ms en tiempo y de 0 a 22.05 kHz en frecuencia. En esta selección se calculó el ancho de banda 90% y el pico de frecuencia (Figura 12 C).

Se comparó las características acústicas de las notas individuales de individuos juveniles con las notas individuales de individuos adultos. Se analizaron nueve notas individuales de tres machos adultos y nueve de notas individuales de tres hembras adultas. Se calculó la duración 90%, el ancho de banda 90% y el pico de frecuencia de las notas individuales de los adultos con la metodología utilizada en individuos juveniles.

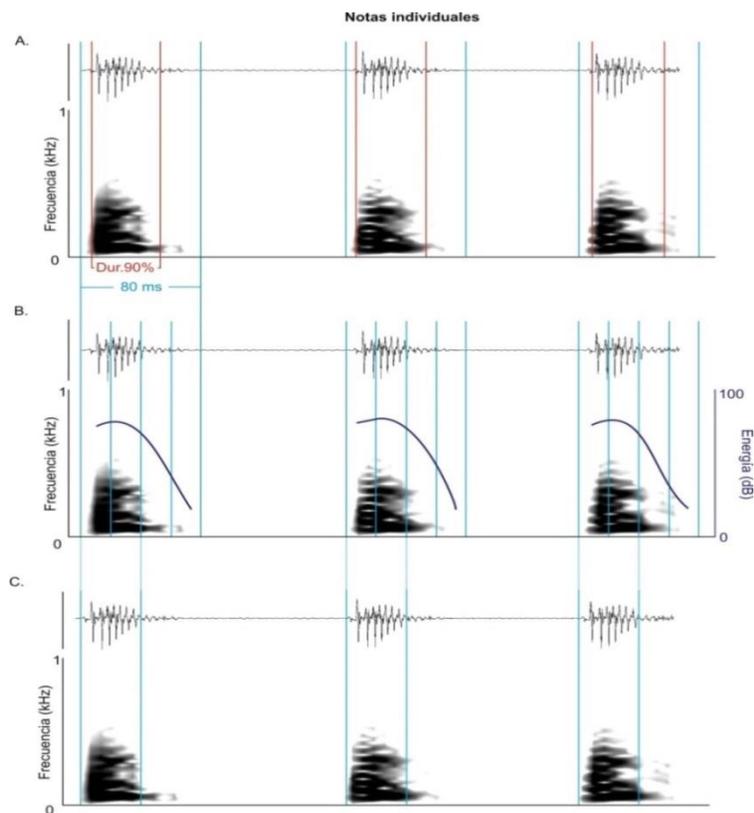


Figura 12. Método utilizado para el análisis cuantitativo de las notas individuales en vocalizaciones de larga-distancia de juveniles del Tuco-Tuco de Anillaco durante el desarrollo vocal. En cada gráfico se presenta el oscilograma en la parte superior y el espectrograma en la parte inferior. **A.** Delimitación sobre el eje temporal de las notas individuales con una selección de 80 ms (línea celeste) sobre el cual se calculó la duración 90% (línea roja). **B.** División de la selección de 80 ms en 4 selecciones de 20 ms en donde calculamos la energía. Los valores de energía para cada una de las selecciones se indican con una línea violeta sobre el espectrograma y el eje a la derecha del mismo. **C.** Elección de las dos selecciones con los valores más altos de energía para definir el tiempo de inicio y final de cada nota individual. Así, las notas individuales quedaron delimitadas con una selección de 40 ms en tiempo y de 0-22.05 kHz en frecuencia, en la que se calculó el ancho de banda 90% y el pico de frecuencia.

Análisis estadísticos

Para evaluar si las características de las series de los juveniles cambiaban linealmente a lo largo del desarrollo se realizaron cuatro correlaciones de Spearman para cada juvenil, comparando el número de series por vocalización, la duración 90% de las tríadas, el ancho de banda 90% de las tríadas y el pico de frecuencia de las tríadas con la edad absoluta de cada individuo.

Se realizaron pruebas de Kruskal Wallis para comparar: a) las características acústicas de las tríadas de cada juvenil consigo mismo durante las doce semanas de grabación y con las características acústicas de individuos adultos del sexo correspondiente; y b) las características acústicas de las notas individuales de los juveniles con las notas individuales de individuos adultos.

Resultados

Generalidades

A lo largo de 12 semanas de estudio se registraron 42 vocalizaciones de larga distancia en las 4 semanas de muestreo. Estas vocalizaciones fueron emitidas por el macho 1, macho 2, macho 3 y hembra 1, mientras que de la hembra 2 no se registró ninguna vocalización (Tabla 4). Las sílabas aparecieron en diferentes momentos del desarrollo vocal y tuvieron diferente protagonismo. La gran mayoría de las vocalizaciones estuvieron compuestas únicamente por series (N=40), mientras que sólo dos vocalizaciones estuvieron compuestas por series y notas individuales (Tabla 4). Mientras que las series fueron registradas desde la semana 1 de muestreo en los tres machos y en la hembra 1 con pesos que variaron desde 39 a 73 g, las notas individuales aparecieron recién en la semana 4 de muestreo en los dos machos que superaron los 150 g de peso (Tabla 4).

Caracterización de las series

Series normales

El número de series emitidas por vocalización varió entre 1 y 20 (Tabla 4). Las vocalizaciones compuestas por una sola serie (N= 19) fueron las primeras vocalizaciones registradas en todos los individuos y las que predominaron durante las 12 semanas de estudio. En los cuatro individuos que vocalizaron, las vocalizaciones con el mayor número de series fueron registradas en las semanas 8 y 12 (Tabla 4). El número de series en las vocalizaciones de larga distancia se incrementó a lo largo del desarrollo en todos los individuos (r de Spearman $>0,8$; $p < 0,02$; Tabla 4). Los individuos juveniles produjeron los tres tipos de series de los adultos. Las tríadas fueron el tipo de serie dominante (78,03%; N=135), seguido por las díadas (20,8%; N=36) y finalmente las tétradas (1,15%; N=2) (Tabla 4). Las tríadas fueron emitidas por los tres machos y la hembra durante todo el estudio, mientras que sólo los machos 1 y 2 emitieron díadas y solamente la hembra 1 emitió tétradas (Tabla 4).

Las tríadas de los individuos juveniles cambiaron la duración 90%, el ancho de banda 90% y el pico de frecuencia durante las doce semanas de grabación. Las tríadas se hicieron más largas, aumentando la duración 90% (r de Spearman $>0,48$; $p < 0,04$) (Figura 13 A, Tabla 5, Tabla 6) y de menor frecuencia, disminuyendo el ancho de banda 90% (r de Spearman $>-0,66$; $p < 0,001$) (Figura 13 B, Tabla 5, Tabla 6) y el pico de frecuencia (r de Spearman $>-0,61$; $p < 0,001$) (Figura 13 B, Tabla 5, Tabla 6). De este modo, la duración 90%, ancho de banda 90% y pico de frecuencia de las tríadas de los juveniles se aproximaron progresivamente a los valores de los adultos (Figura 13, Tabla 5).

En cada juvenil, los menores cambios de las características acústicas de las tríadas se produjeron entre la semana 1 y la semana 4; y entre la semana 8 y la semana 12 (prueba de Kruskal Wallis no significativa) (Tabla 7). Por el contrario, los mayores cambios de las características acústicas de las tríadas se produjeron entre la semana 1 y la semana 12 (prueba de Kruskal Wallis significativa) (Tabla 7). Por otro lado, las tríadas de los juveniles de la semana 1 fueron diferentes a las tríadas de los adultos tríadas (prueba de Kruskal Wallis significativa), en cambio

las tríadas de las semanas 8 y 12 fueron similares a las tríadas de los adultos (prueba de Kruskal Wallis no significativa) (Tabla 7).

Tabla 4. Vocalizaciones de larga-distancia producidas por los cuatro juveniles (machos 1, 2, 3 y la hembra 1) del Tuco-Tuco de Anillaco durante 4 semanas de muestreo a lo largo de 12 semanas. Para cada semana de registro se indican: Peso (g), cantidad de horas de grabación (Grab), cantidad de vocalizaciones registradas (1 a 4), cantidad de cada tipo de serie registrado por vocalización (tríadas en rojo, díadas en verde y tétradas en celeste) y cantidad de notas individuales registradas por vocalización (en amarillo).

Individuo	Semana 1				Semana 4				Semana 8				Semana 12			
	Peso (g)	Días	Grab (hs)	Vocalizaciones I II III IV	Peso (g)	Días	Grab (hs)	Vocalizaciones I II III IV	Peso (g)	Días	Grab (hs)	Vocalizaciones I II III IV	Peso (g)	Días	Grab (hs)	Vocalizaciones I II III IV
Macho 1	73	28	22	1 1 1 -	101	58	24	1 1 1 5 1	125	88	18	2 2 1 - 3 3 6	162	118	24	2 2 1 4 4
Macho 2	47	18	22	1 1 - -	85	48	20	1 1 1 - 2	122	78	24	1 2 2 6 3 4	156	108	24	2 2 2 3 3
Macho 3	45	17	20	1 1 - -	80	47	22	1 2 - -	121	77	20	4 7 - -	-	-	-	-
Hembra 1	39	14	22	1 1 1 -	68	34	24	1 1 1 - 1	95	64	22	1 2 3 -	125	94	20	5
Hembra 2	55		20	- - - -	70		18	- - - -	92		22	- - - -	115		20	-

Tabla 5. Caracterización acústica de las tríadas y de las notas individuales de los cuatro juveniles (machos 1, 2, 3 y la hembra 1) del Tuco-Tuco de Anillaco (*Ctenomys* sp.) durante las 12 semanas de grabación. Indicamos para cada individuo la duración 90%, el ancho de banda 90%, el pico de frecuencia, el peso en la semana de registro y el número de series y notas individuales analizadas por semana (N).

Individuo	Parámetros	Series				Notas Individuales
		Semana 1	Semana 4	Semana 8	Semana 12	Semana 12
Macho 1	Dur. 90% (ms)	278,6±20,1 (255,4-301,9)	278,6±0 (278,6-278,6)	333,8±5,3 (325,1-336,7)	325,1±0 (325,1-325,1)	54,2±0,006 (46,4-58,1)
	Ancho de Banda 90% (Hz)	535,9±57,1 (452,2-624,4)	730,3±96,6 (581,4-807,5)	253±129,8 (183-656,8)	364,2±127,6 (204,6-495,2)	556,3±6,2 (549,1-559,9)
	Pico de Fr. (Hz)	284,7±50,8 (226,1-387,6)	245,8±58,3 (193,8-333,8)	192,9±35,4 (150,7-247,6)	179,4±45,0 (150,7-247,6)	147,1±6,1 (140-150,7)
	Peso (g)-días-n	73 - 2	101 - 3	125 - 3	162 - 3	162 - 3
Macho 2	Dur. 90% (ms)	226,4±6,4 (220,6- 232,2)	322,2±10,1 (313,5-336,7)	329±5,8 (325,1-336,7)	330,9±6,4 (325,1-336,7)	50,3±0,006 (46,4-58,1)
	Ancho de Banda 90% (Hz)	1729,8±1392,0 (473,8-4.392,7)	443,2±111,6 (258,4-656,7)	330,1±103,5 (204,6-462,9)	111,2±36,4 (86,1-183,1)	200,9±12,4 (193,8-215,3)
	Pico de Fr. (Hz)	394,7±140,4 (279,9-635,2)	247,6±70,3 (118,4-323)	178,2±58,9 (107,7-312,2)	168,6±16,2 (150,7-183)	222,5±34,6 (183-247,6)
	Peso (g) – N	47 - 2	85 - 3	122 - 2	156 - 3	156 - 3
Macho 3	Dur. 90% (ms)	284,4±6,4 (278,6-290,3)	272±5,8 (266,7-277,3)	310,9±9,9 (301,9-325,1)	-	-
	Ancho de Banda 90% (Hz)	1744,2±204,6 (1.453,5-1.938)	519,5±99,3 (386,7-656,2)	355,5±179,9 (199,3-574,2)	-	-
	Pico de Fr. (Hz)	581,4±308,9 (204,6-1.044,4)	248,2±91,4 (152,3-410,2)	181,6±54,8 (152,3-293)	-	-
	Peso (g) – N	45 - 2	80 - 2	121 - 2	-	-
Hembra 1	Dur. 90% (ms)	274,8±5,8 (267-278,6)	286,4±11,6 (278,6-301,9)	305,7±5,8 (301,9-313,5)	301,9±0 (301,9-301,9)	-
	Ancho de Banda 90% (Hz)	1823,1±467,2 (1.195,1-2.444)	561±157,5 (409,1-807,5)	229,6±180 (107,7-678,3)	348,0±67,6 (258,4-430,6)	-
	Pico de Fr. (Hz)	624,4±202,9 (333,8-904,4)	395,9±173,1 (161,5-592,2)	339,7±7,7 (333,8-355,3)	314,0±12,5 (290,7-323)	-
	Peso (g) – N	39 - 2	68 - 3	95 - 3	125 - 2	-

Tabla 6. Correlaciones de Spearman de los juveniles (machos 1, 2, 3 y la hembra 1) de Tuco-Tuco de Anillaco (*Ctenomys* sp.) entre: series por vocalización, duración 90%, ancho de banda 90% y pico de frecuencia de las series con la semana en que se registraron las vocalizaciones. Para cada correlación se indican los valores de r y la p asociada.

	Macho 1	Macho 2	Macho 3	Hembra 1
Series por vocalización	r= 0,90	r= 0,80	r= 0,89	r= 0,80
	p= 2,3e-05	p= 1,7e-03	p= 0,02	p= 3,2e-03
Duración	r= 0,77	r= 0,71	r= 0,48	r= 0,80
90%	p= 5,3e-08	p= 9,3e-06	p= 0,04	p=2,9e-08
Ancho de banda	r= -0,81	r= -0,66	r= -0,84	r= -0,82
90%	p= 1,6e-09	p= 6,3e-05	p= 1,1e-05	p= 7,3e-09
Pico de frecuencia	r= -0,63	r= -0,72	r= -0,72	r= -0,61
	p= 3,3e-05	p= 8,5e-06	p= 6,7e-04	p= 1,7e-04

Tabla 7. Prueba de Kruskal Wallis de los juveniles (machos 1, 2, 3 y la hembra 1) del Tuco-Tuco de Anillaco (*Ctenomys* sp.) para comparar las características acústicas de las tríadas con los días estimados desde el nacimiento y las tríadas de individuos adultos macho y hembra según corresponda (*, significativo; -, no significativo). Se muestran los parámetros duración 90% (D), ancho de banda 90% (A) y pico de frecuencia (P).

Macho 1	73 g-28 días			101 g-58 días			125 g-88 días			162g-118 días			Adulto		
	D	A	P	D	A	P	D	A	P	D	A	P	D	A	P
Semana 1				*	-	-	*	-	*	*	*	*	-	*	*
Semana 4							-	-	*	-	*	*	*	*	*
Semana 8										-	*	-	*	*	-
Semana 12													*	-	-
Adulto															

Macho 2	47g-18 días			85g-48 días			122 g-78 días			156 g-108 días			Adulto		
	D	A	P	D	A	P	D	A	P	D	A	P	D	A	P
Semana 1				-	-	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*
Semana 4							*	*	-	*	*	*	-	*	*
Semana 8										-	-	-	*	*	-
Semana 12													*	*	-
Adulto															

Macho 3	45 g-17 días			80 g-47 días			121 g-77 días			Adulto		
	D	A	P	D	A	P	D	A	P	D	A	P
Semana 1				-	-	-	*	-	*	*	*	*
Semana 4							*	-	-	*	*	*
Semana 8										-	*	-
Adulto												

Hembra 1	39 g-14 días			68 g-44 días			95 g-64 días			125 g-94 días			Adulto		
	D	A	P	D	A	P	D	A	P	D	A	P	D	A	P
Semana 1				-	-	*	*	*	-	*	*	*	*	*	*
Semana 4							*	*	-	-	-	-	*	*	*
Semana 8										-	-	-	-	-	*
Semana 12													-	-	*
Adulto															

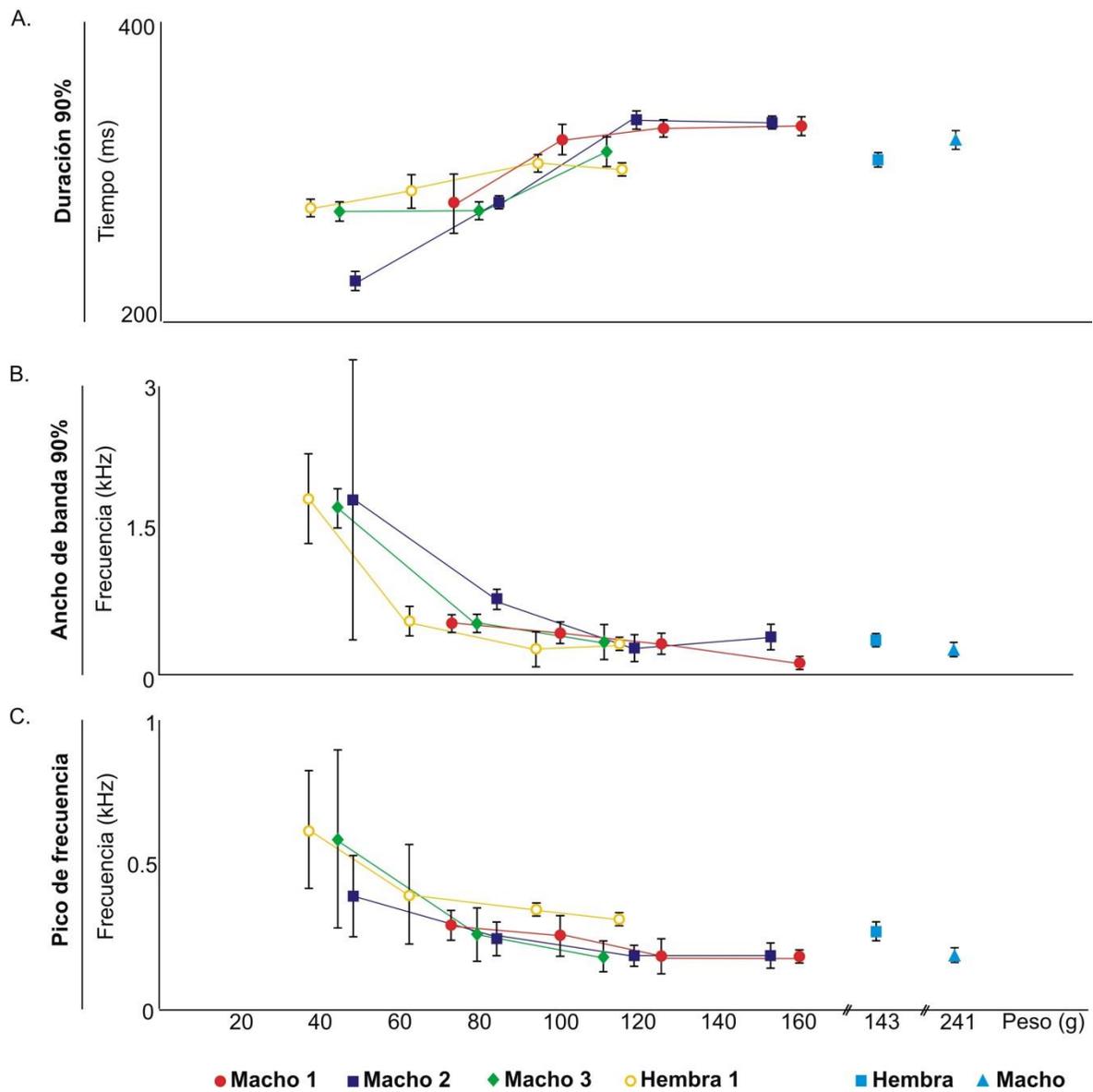


Figura 13. Desarrollo ontogenético de características acústicas de las tríadas de cuatro juveniles (machos 1, 2, 3 y hembra 1) del Tuco-Tuco de Anillaco (*Ctenomys* sp.) y comparación con las características de adultos. Macho 1 (círculo rojo), macho 2 (cuadrado violeta), macho 3 (rombo verde) y hembra 1 (círculo amarillo). Se indica las características acústicas de los machos adultos (rombo celeste) y de las hembras adultas (cuadrado celeste). En el eje horizontal se indica el peso (g) de los juveniles en la semana que

registramos la vocalización y en los individuos adultos se indica el peso promedio (Amaya et al. 2016). **A.** Duración 90%. **B.** Ancho de Banda 90 %. **C.** Pico de Frecuencia.

Series anormales

Se registraron dos tipos de anomalías en las vocalizaciones de los juveniles. El primer tipo de anomalía consistió en la adición de una nota suave inicial antes de la nota 1 (Figura 14) y fue registrada durante todo el periodo de estudio. Estas series anormales se constituyeron de la siguiente forma: tríada anormal (nota suave inicial, nota 1, nota suave A, nota 2, nota suave B y nota 3; n=4) (Figura 14 A); díada anormal (nota suave inicial, nota 1, nota suave A, nota 2; n=6), (Figura 14 B); tétrada anormal (nota suave inicial, nota 1, nota suave A, nota 2, nota suave B, nota 3, nota suave C y nota 4; n=1) (Figura 14 C). El segundo tipo de anomalía estuvo dado por la emisión de monadas (conformadas por una nota y una nota suave; n=3) (Figura 14 D).

En los juveniles, las series anormales se produjeron en el 7,9% de las series (n=14), mientras que las series normales se produjeron en el 92,1% de las ocasiones (n=162). Sin embargo, en los adultos, las anomalías se produjeron apenas en el 0,2% de las series (una tríada anormal y una díada anormal; n=2) mientras que el 99,8% de las series fueron normales (n=701) y nunca se registraron monadas.

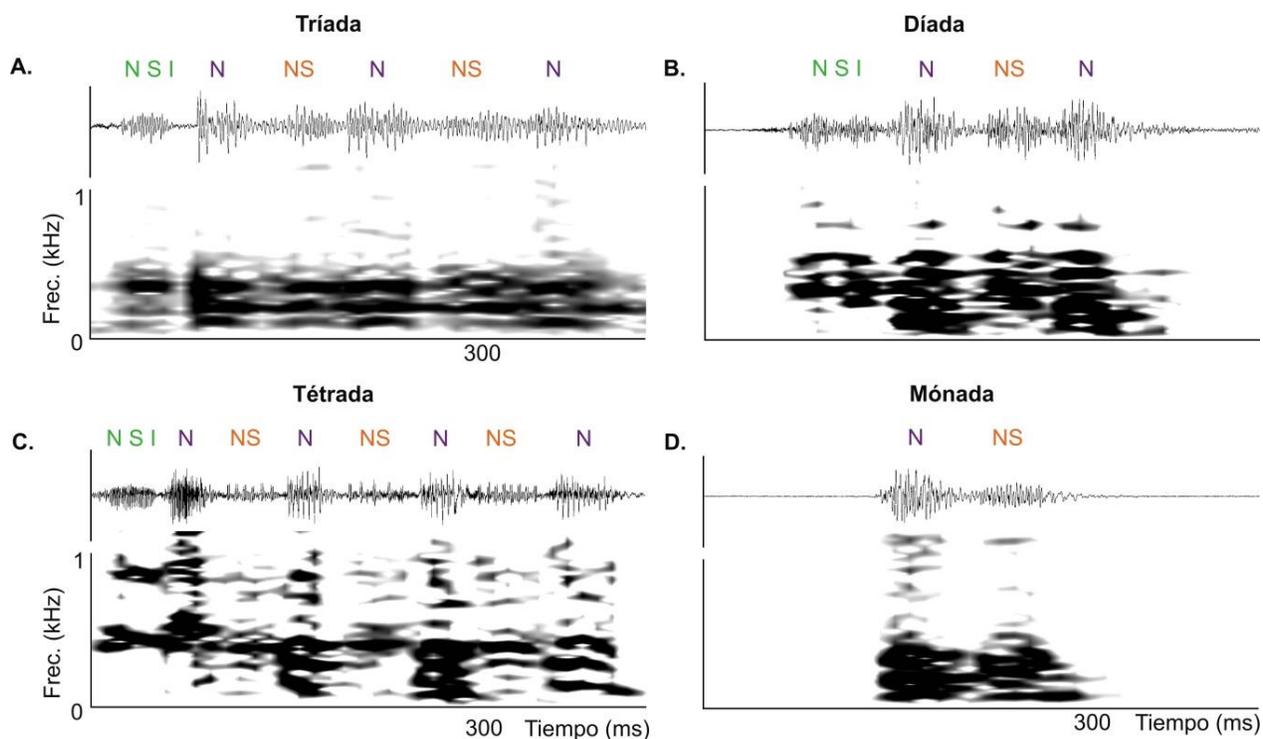


Figura 14. Series anormales emitidas de los cuatro juveniles (machos 1, 2, 3 y hembra 1) del Tuco-Tuco de Anillaco (*Ctenomys* sp.) durante 4 semanas de muestreo a lo largo de 12 semanas. En cada gráfico se presenta el oscilograma en la parte superior y el espectrograma en la parte inferior. **A.** Tríada anormal; Audio 7 (Apéndice 3). **B.** Díada anormal; Audio 8 (Apéndice 3). **C.** Tétrada anormal; Audio 9 (Apéndice 3). **D.** Mónada; Audio 10 (Apéndice 3). NSI (color verde) indica la nota suave inicial (emitida antes que la serie). N (color violeta) indica la nota en la serie. NS (color naranja) indica la nota suave en la serie.

Caracterización de las notas individuales

Las notas individuales de las vocalizaciones de larga distancia se registraron en dos vocalizaciones emitidas en la semana 12: una vocalización del macho 1 (162g) compuesta por 20 series y 26 notas individuales; y otra del macho 2 (156g) compuesta por 20 series y 31 notas individuales (Tabla 4). Estas notas individuales tuvieron ancho de banda 90% y pico de frecuencia similar a las tríadas de la semana doce (Tabla 8). Las notas individuales de estos juveniles no difirieron de las notas individuales de los adultos; excepto que las notas individuales de los adultos tuvieron mayor duración 90% (Figura 15).

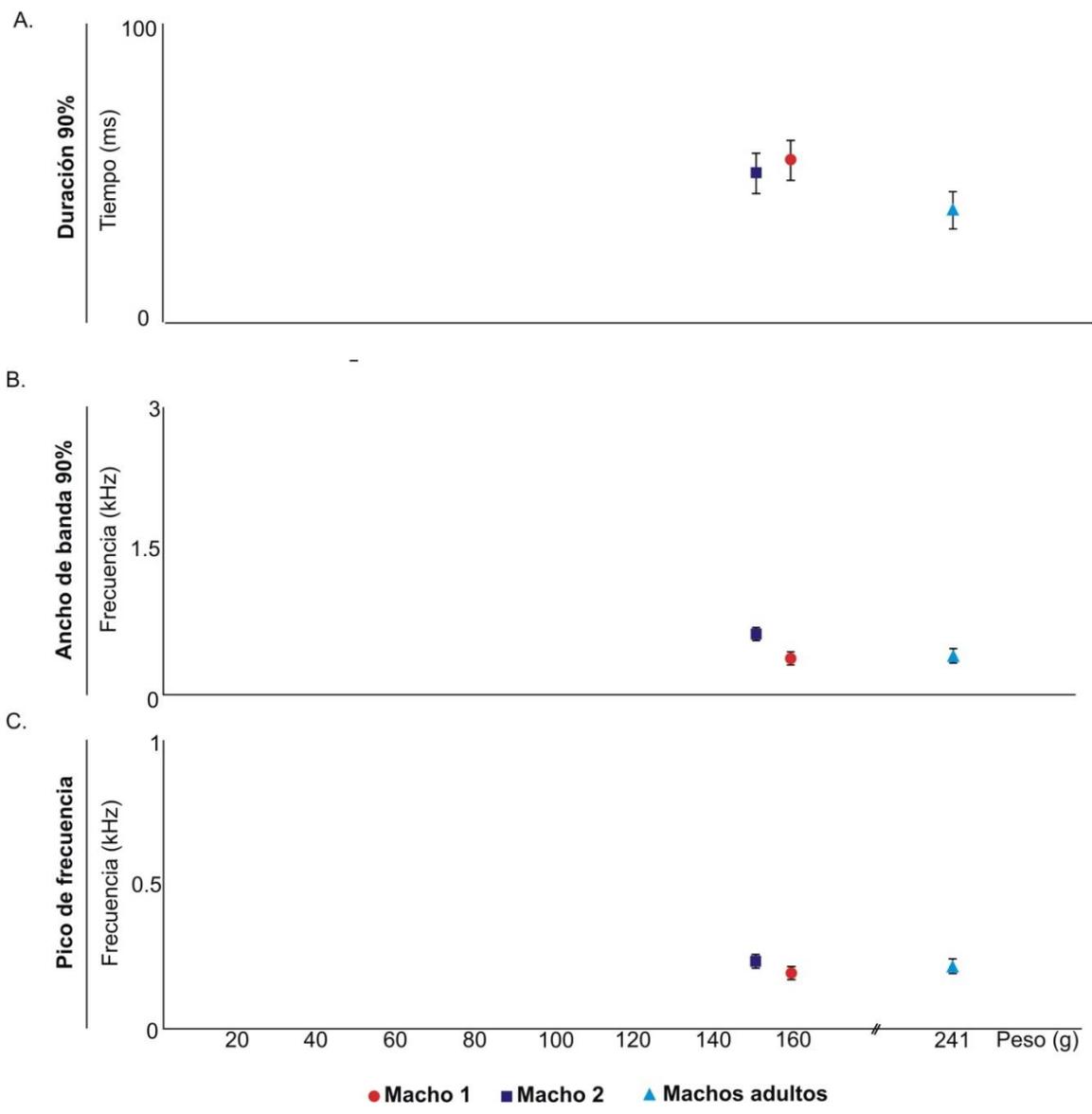


Figura 15. Caracterización acústica de las notas individuales del macho 1 (círculo rojo) y del macho 2 (cuadrado violeta) producidas en la 12 semana de registro. También se indica las características acústicas de las notas individuales de machos adultos del Tuco-Tuco de Anillaco. Se presentan las características acústicas de las notas individuales de machos adultos (triangulo celeste). En el eje horizontal indicamos el peso (g) de los juveniles en la semana que registramos la vocalización y en los individuos adultos indicamos el peso promedio (Capítulo 1). **A.** Duración 90%. **B.** Ancho de Banda 90%. **C.** Pico de Frecuencia.

Tabla 8. Prueba de Kruskal Wallis de los juveniles (machos 1 y macho 2) del Tuco-Tuco de Anillaco (*Ctenomys* sp.) para comparar las características acústicas de las notas individuales entre sí y con las notas individuales de individuos macho adultos. Se muestran los parámetros duración 90% (D), ancho de banda 90% (A) y pico de frecuencia (P).

Notas individuales	Macho 1			Macho 2			Adulto		
	D	A	P	D	A	P	D	A	P
Macho 1				-	-	-	*	-	-
Macho 2							*	-	-
Adulto									

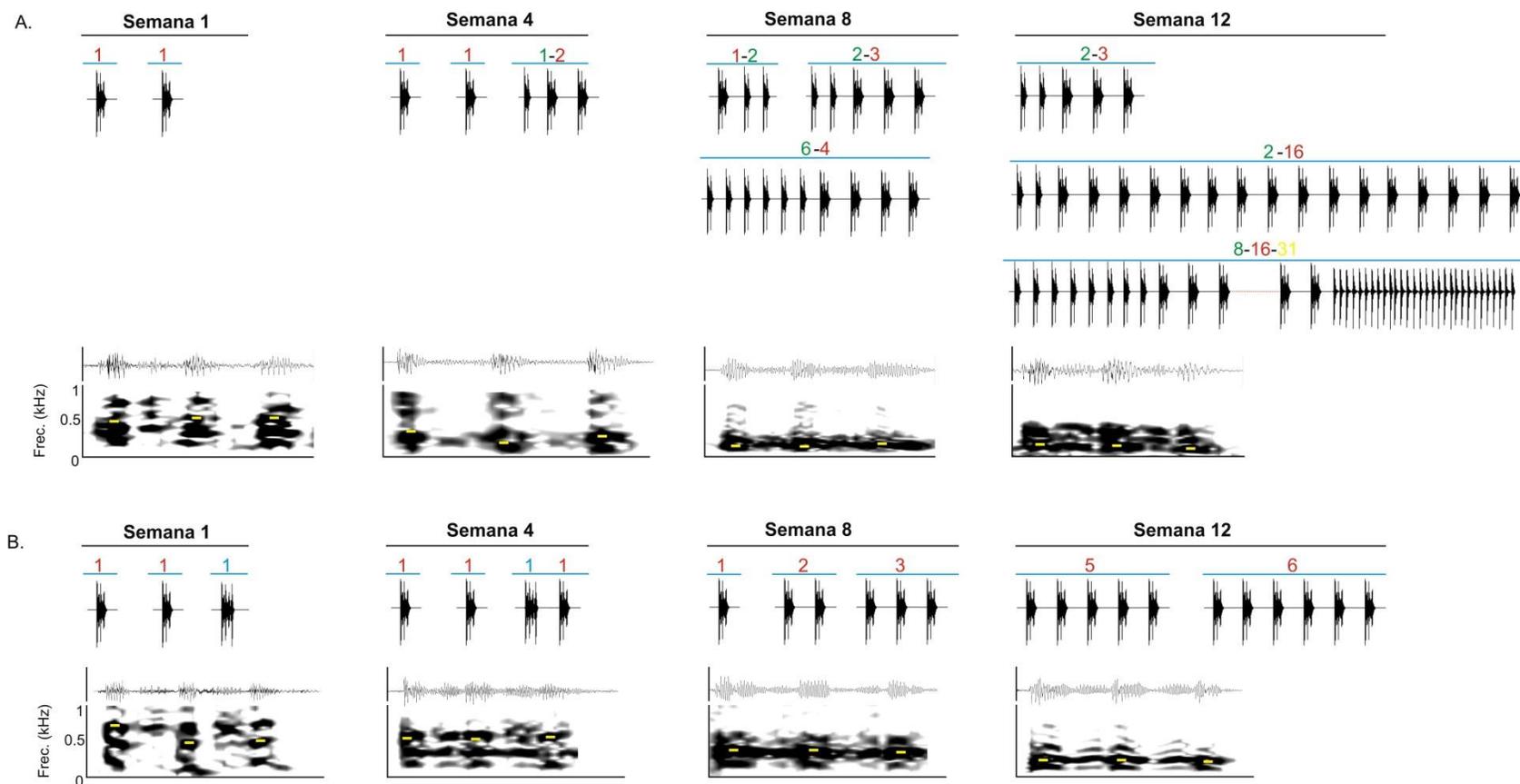


Figura 15. Representación esquemática de la vocalización de larga-distancia del Tuco-Tuco de Anillaco durante el desarrollo vocal. Indicamos por semana, los cambios en el número de sílabas por vocalización representadas con oscilogramas (numero rojo, tríadas; numero verde, diadas; número azul, tétradas; número amarillo, notas individuales); y el oscilograma y el espectrograma de una serie representativa por semana para indicar los cambios en frecuencia a lo largo del desarrollo vocal. A. Macho 1; Audio 11 ([Apéndice 3](#)). B. Hembra 1; Audio 12 ([Apéndice 3](#)). El guion amarillo en las notas de las tríadas indica la posición del pico de frecuencia.

Discusión

Generalidades

En este capítulo se demostró que la vocalización normal de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco se desarrolla normalmente en juveniles aislados acústicamente de adultos luego de convivir con estos entre 14 y 28 días, apoyando la hipótesis de desarrollo por maduración del tracto vocal. Las dos sílabas que conforman la vocalización de larga distancia exhibieron diferentes patrones de desarrollo: mientras que las series comenzaron con precursores juveniles que se fueron pareciendo paulatinamente a las de los adultos, las notas individuales aparecieron tardíamente *de novo* en la ontogenia, con valores muy similares o indistinguibles de los de los adultos. A lo largo de la ontogenia, los juveniles emiten más vocalizaciones anormales que los adultos, tal como se espera en el desarrollo de cualquier comportamiento complejo que requiere de práctica para ser dominado.

Aprendizaje vs maduración en la vocalización de larga distancia

Las vocalizaciones de los roedores parecen desarrollarse por maduración del aparato vocal y no por aprendizaje vocal (Campbell et al. 2014), ya que las vocalizaciones de los adultos se desarrollan normalmente sin necesidad de un modelo auditivo del cual aprender (Scherrer & Wilkinson 1993). Por ejemplo, los juveniles aislados acústicamente de *Mus musculus* (Grimsley et al. 2011) y dos especies de *Scotinomys* (Campbell et al. 2014) desarrollan las vocalizaciones de los adultos normalmente. En este capítulo se demuestra que los juveniles del Tuco-Tuco de Anillaco desarrollaron la vocalización de larga distancia de los adultos sin tener un modelo auditivo externo entre los 14-28 días y los 94-118 días. Esto indicaría, que el desarrollo de la vocalización es producto de la maduración y no de un proceso de aprendizaje (Efremova et al. 2011). Sin embargo, desde el nacimiento hasta que fueron capturados, los juveniles estuvieron expuestos a vocalizaciones de larga distancia de adultos que podrían haber servido de modelo auditivo influenciando el subsiguiente desarrollo vocal. Para contrastar esta hipótesis es necesario plantear futuros diseños experimentales que permitan establecer en qué momento

los juveniles adquieren la capacidad de escuchar, evaluar si juveniles ensordecidos desarrollan normalmente la vocalización larga distancia, y aislar a los juveniles de sus progenitores lo más temprano posible controlando que no hayan estado expuestos vocalizaciones de larga distancia de los adultos (Kroodsma et al. 1982; Kroodsma & Konishi 1991; Campbell et al. 2014).

Desarrollo de la vocalización

Los dos tipos de sílabas (series y notas individuales) de la vocalización de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco se desarrollan de modos distintos. Los tres tipos de series de las vocalizaciones adultas (díadas, tríadas y tétradas) aparecen como tales tempranamente en las vocalizaciones de los juveniles, aunque con parámetros acústicos distintos a los adultos. Estos precursores juveniles de las series de los adultos se desarrollan por cambios paulatinos en sus parámetros acústicos pero sin cambiar su estructura. Dicha falta de cambios estructurales es interesante, ya que *a priori*, habría sido posible que el desarrollo progresara desde la emisión de notas y notas suaves separadas a la emisión de mónadas, llevando consecutivamente mediante la repetición de las estructuras básicas, a la aparición de los otros tipos de series compuestos por más notas y notas suaves. Las tríadas son el tipo de serie más común tanto en juveniles como en adultos del Tuco-Tuco de Anillaco. Esto parece indicar una componente genética fuerte en la tasa de emisión de los tipos de series en *Ctenomys*. De hecho, otros tipos de series predominan en otras especies de tuco-tucos. Por ejemplo, las mónadas son características de *C.talarum* (Schleich & Busch 2002a, Capítulo 2, ver también Amaya et al. 2016), mientras que las díadas son características de *C. mendocinus* (Amaya & Areta, datos sin publicar).

Mientras que los tipos de series se mantienen entre la juventud y la adultez, las características acústicas de estas series experimentan un proceso de desarrollo aumentando su duración y disminuyendo su ancho de banda y su frecuencia pico hasta alcanzar los valores de los adultos.

La proporción de series anormales es considerablemente mayor en las vocalizaciones de los juveniles que en las de los adultos. La maduración morfológica y neuromuscular del aparato vocal y la práctica vocal podrían ser las causas de la casi ausencia de anomalías en las series de

los adultos. De acuerdo con esta interpretación, algo similar podría ocurrir en los juveniles del cricétido *Scotinomys*; si bien para los mismos se describieron cinco tipos de notas (Campbell et al. 2014), especulamos que los cuatro tipos de notas menos frecuentes simplemente representan anomalías de un mismo tipo de nota que resulta muy frecuente (la nota A, que se conservaría hasta la adultez).

A diferencia de las tríadas, las notas individuales aparecen tardíamente, *de novo* y con valores de parámetros acústicos indistinguibles o muy parecidos a los de los adultos. Las notas individuales comienzan a ser emitidas cuando las series ya poseen las características de los adultos. Esto sugiere que la aparición de las notas individuales con sus características definitivas sin la existencia de precursores ontogenéticos es posible debido a que el sistema neuromuscular y el aparato vocal adquieren la necesaria “sintonía fina” mediante la práctica de las series en el desarrollo. La maduración pasiva de las notas individuales sería entonces, al menos en parte, un co-producto de la maduración activa de las series.

En síntesis, la vocalización de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco tiene un desarrollo mixto, ya que incluye un segmento que se desarrolla a partir de claros precursores ontogenéticos en los juveniles y otro segmento conformado por sonidos que aparecen *de novo*. Este tipo de desarrollo mixto no ha sido reportado en las vocalizaciones de otros roedores. Por ejemplo, la vocalización de *Mus musculus* se desarrolla a partir de precursores que van aumentando la duración y disminuyendo la frecuencia fundamental de las sílabas (Grimsley et al. 2011), mientras que las características acústicas de las notas que conforman el canto de *Scotinomys* no experimentan cambios ontogenéticos (Campbell et al. 2014) y son por lo tanto el producto de la retención de vocalizaciones de los juveniles.

Las vocalizaciones de larga distancia del tuco-tuco de Anillaco poseen variados patrones sintácticos, que potencialmente codificarían distinta información (Capítulo 2, ver también Amaya et al. 2016). Estos patrones sintácticos experimentan un cambio ontogenético que involucra en principio el incremento del número y tipo de series por vocalización, y luego el incremento de tipos de sílabas dado por la aparición tardía de las notas individuales. Por el

contrario, el patrón temporal del canto de los adultos de *Scotinomys* aparece *de novo* luego de un período de inactividad vocal (Campbell et al. 2014).

Pese a la variación sintáctica, todas las vocalizaciones reportadas en el capítulo 1 comenzaron con series y algunas pocas carecieron de notas individuales. Puede trazarse un paralelismo entre este patrón general de la adultez y el del desarrollo ontogenético: mientras que las vocalizaciones tempranas de juveniles estuvieron constituidas únicamente por series, sólo algunas de las vocalizaciones más tardías incluyeron notas individuales que aparecieron *de novo*.

Francescoli y Quirici (2010) reconocieron dos tipos de patrones en las vocalizaciones de larga distancia en *Ctenomys*: Tipo I y Tipo II. La estructura rítmica de la vocalización de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco se asemeja de forma general al patrón Tipo I, dado que presenta dos segmentos formados por elementos que se repiten un número variable de veces (Amaya et al. 2016). En la vocalización Tipo I se reconocen dos tipos de segmentos formados por elementos repetidos: Francescoli y Quirici (2010) reconocen Parte 1 y Parte 2, que parece ser equivalente a las definidas como Subserie 1 y Subserie 2 por Schleich y Busch (2002a), y bastante semejante (aunque no idéntico) a la sucesión de series y a la sucesión de notas individuales reportados en este capítulo. Debido a los variables patrones sintácticos encontrados en la vocalización del Tuco- Tuco de Anillaco, se considera que interpretar que la vocalización de larga distancia está compuesta por solo dos partes o subseries es impreciso. Los elementos que conforman cada tipo de segmento fueron nombrados diferentes por los diferentes autores: unidades (Francescoli & Quirici 2010), notas (Schleich & Busch 2002a) y sílabas (Capítulo 2, ver también Amaya et al. 2016). Sin duda, la falta de uniformidad en la nomenclatura de los sonidos de la vocalización de larga distancia de *Ctenomys* hace más compleja la comparación de resultados con estas pocas publicaciones preexistentes.

Las vocalizaciones Tipo I parecen tener otras propiedades no explicitadas por Francescoli y Quirici (2010). Las “unidades” en la Parte 1 parecen tener, en promedio, silencios más largos entre ellas, mientras que las “unidades” de la Parte 2 parecen tener, en promedio, silencios más cortos entre ellas (Schleich & Busch 2002a; Capítulo 2, ver también Amaya et al. 2016).

También, la vocalización Tipo I parece estar formada por más “unidades” repetidas y tener mayor duración que la vocalización Tipo II. Esta clasificación dicotómica de la vocalización de larga distancia en Tipo I y Tipo II parece ser muy limitada para estudios comparativos y para entender la evolución vocal sobre la base de un criterio de homologías. Los diversos patrones de sucesión de series (i.e., unidades de Parte 1) y notas individuales (i.e., unidades de Parte 2) encontrados en el Tuco-Tuco de Anillaco, junto con la existencia de distintos tipos de notas (nota introductoria y bloques) de las vocalizaciones Tipo 2, empañan la tajante distinción entre los patrones Tipo I y Tipo II propuestos por Francescoli y Quirici (2010). Claramente, se necesitan comparaciones detalladas teniendo en cuenta las características temporales y estructurales de las vocalizaciones de largo distancia bajo un marco formal de homología para entender mejor la evolución vocal en *Ctenomys*.

El estudio del desarrollo vocal en los tuco-tucos puede arrojar luz sobre las homologías entre las estructuras que conforman estos dos tipos vocales. Por ejemplo, si las notas introductorias de las vocalizaciones Tipo II aparecen primero en el desarrollo ontogenético y los bloques aparecen después, podría sugerirse que las notas introductorias podrían homologarse a las series de las vocalizaciones Tipo I, mientras que los bloques serían homólogos a las notas individuales. Futuros estudios comparativos del desarrollo ontogenético de especies de *Ctenomys* con características vocales distintas permitirán contrastar estas hipótesis.

Capítulo 3: Vocalizaciones de corta distancia

Introducción

Las vocalizaciones de corta distancia de los mamíferos transmiten información entre el emisor y el receptor cuando éstos se encuentran próximos entre sí (Smith 1991; Dabelsteen & McGregor 1996). Generalmente los machos producen señales acústicas de corta distancia durante el cortejo con el fin de estimular y persuadir a las hembras para la cópula (Bradbury & Vehrencamp 2011). Estas señales de cortejo juegan un rol importante para la selección de parejas en la mayoría de las especies en donde generalmente las hembras elijen a los machos según sus cualidades (Bradbury & Vehrencamp 2011). En la comunicación acústica, una de las formas en que los machos podrían emitir vocalizaciones con características distintivas respecto de otros individuos es producir vocalizaciones con fenómenos no lineales (Fitch et al. 2002). Los fenómenos no lineales en las vocalizaciones son productos de la interacción durante el proceso de fonación entre la presión aerodinámica en la glotis y las fuerzas biomecánicas de las cuerdas vocales (Wilden et al. 1998). Esta compleja interacción puede producir una gran variedad de sonidos. El flujo de presión en la glotis, la tensión de las cuerdas vocales y la colisión entre las cuerdas vocales constituyen los elementos esenciales para la generación de fenómenos no lineales (Wilden et al. 1998). Los elementos distintivos de las vocalizaciones generadas por procesos no lineales son: los *subarmónicos*, el *caos determinístico* y la *bifonación* (Fitch et al. 2002).

Las vocalizaciones con *subarmónicos* son señales compuestas por frecuencias diferentes a la frecuencia fundamental y a los armónicos de dicha frecuencia. Generalmente, los *subarmónicos* tienen la mitad de valor de la frecuencia fundamental y de los armónicos de ésta, dando como resultado el doble de frecuencias en el espectrograma (Fitch et al. 2002). Las vocalizaciones con *caos determinístico* están compuestas por un espectro de banda ancha con la energía concentrada en distintas frecuencias. Sin embargo, no hay una verdadera aleatoriedad en la distribución de energía en el espectro, sino que es determinada (Fitch et al. 2002). Las vocalizaciones con *bifonación* están compuestas por frecuencias emitidas de forma simultánea, que a diferencia de los *subarmónicos* son independientes, es decir que no tienen una relación armónica (Fitch et al. 2002). Los fenómenos no lineales han sido identificados en varias especies de mamíferos (Suthers et al. 2006; Wilden et al. 1998; Riede et al. 2004; Riede et al. 2000; Tyson et al. 2007), y entre los roedores subterráneos en *Fukomys mechowii* (fam. Bathyergidae; Bednářová et al. 2013).

En los roedores subterráneos, las señales acústicas conjuntamente con las señales químicas y táctiles son especialmente importantes para la comunicación macho-hembra durante el cortejo (Nevo 1979). Las señales acústicas conocidas como “vocalizaciones de cortejo” son producidas principalmente por los machos durante las etapas preliminares (y las más agresivas) a la cópula, pudiendo funcionar aumentando la receptividad y disminuyendo la agresión de las hembras con el fin último de que la cópula tenga lugar (Heth et al. 1988). De este modo, las vocalizaciones de los machos durante el cortejo y la cópula juegan un importante rol para que el apareamiento sea exitoso. La producción de estas vocalizaciones es fundamental en la comunicación de corta distancia en los roedores subterráneos, donde la oscuridad de las cuevas impone restricciones a las señales visuales (Begall et al. 2007).

Del mismo modo, las vocalizaciones de corta distancia de *Ctenomys* parecen jugar un papel importante para la comunicación entre individuos dentro del mismo sistema de túneles (Francescoli 1999; Schleich & Busch 2002a). Hasta la fecha no se realizaron estudios sobre el comportamiento de los individuos macho-hembra durante el cortejo en asociación a las vocalizaciones de corta distancia.

Sin embargo, se realizaron estudios descriptivos de vocalizaciones asociadas al cortejo en *C. pearsoni* (Francescoli 1999) y *C. talarum* (Schleich & Busch 2002a). En ambas especies las hembras producen vocalizaciones armónicas de baja intensidad durante el cortejo descritas como señales “Tipo-C” en *C. pearsoni* (Francescoli 1999) y como “vocalizaciones de cortejo” de la hembra en *C. talarum* (Schleich & Busch 2002a). Las mismas son producidas cuando el macho y la hembra se encuentran próximos o bien cuando el macho intenta montar a la hembra. A su vez, durante el cortejo, los machos y las hembras de *C. pearsoni* (Francescoli 1999) y los machos de *C. talarum* (Schleich & Busch 2002a) emiten series de notas de baja frecuencia y baja intensidad (“graznidos” en *C. pearsoni* y “vocalizaciones de cortejo” de los machos en *C. talarum*).

Objetivos específicos

1. Proporcionar la primera caracterización acústica cuantitativa de la vocalización de corta distancia del Tuco-Tuco de Anillaco, utilizando grabaciones realizadas durante encuentros macho-hembra en laboratorio.
2. Describir el contexto de comportamiento en el que se producen estas vocalizaciones en encuentros diseñados para evaluar su función comunicativa.

Además de contribuir al conocimiento de la comunicación acústica en *Ctenomys*, este trabajo contrasta la hipótesis de que las señales acústicas de corta distancia son importantes para la comunicación entre individuos macho y hembra durante el cortejo y la cópula.

Materiales y métodos

Individuos de estudio

Se capturaron 12 individuos adultos (5 machos y 7 hembras) del Tuco-Tuco de Anillaco en los alrededores de la localidad de Anillaco en los años 2014, 2015 y 2016 utilizando trampas tubo (ver página 19). Los individuos fueron transportados al laboratorio de Cronobiología y Comportamiento en el CRILAR, donde fueron mantenidos en un sistema de túneles artificiales (ver página 19).

Registro de las vocalizaciones y el comportamiento durante el cortejo

Para registrar las vocalizaciones y el comportamiento de los individuos durante el cortejo se diseñaron encuentros macho-hembra sexualmente maduros. Los individuos experimentales fueron: en el año 2014 dos machos; macho A (267 g) y macho B (168 g) y dos hembras; hembra C (140 g) y hembra D (160 g). En el año 2015 los mismos dos machos; macho A (274 g) y B macho (220 g), y dos hembras; hembra C (160 g) y hembra E (110 g). En el año 2016, tres machos; macho F (144 g), macho G (177 g) y macho H (170 g); y cuatro hembras; hembra I (165 g), hembra J (137 g), hembra K (133 g) y hembra L (125 g). Se realizaron 26 encuentros macho-hembra de 15-20 minutos de duración (Tabla 9) entre los meses de Junio a Septiembre que se corresponden con la época reproductiva estimada para esta especie (Valentinuzzi, datos no publicados).

La grabación de las vocalizaciones producidas durante los encuentros se realizaron con una grabadora digital Zoom h4n (frecuencia de muestreo de 44,1 kHz y 24 bits de profundidad). Las vocalizaciones fueron de baja intensidad, por lo que para lograr una mayor calidad en las grabaciones la grabadora era sostenida con la mano y acompañaba de cerca el movimiento de los individuos sin interferir en su comportamiento. Simultáneamente se registró el comportamiento de los individuos con una cámara de vídeo digital (Nikon D5100). A partir de estos registros de audio y video pudimos caracterizar las vocalizaciones y los comportamientos asociados durante el cortejo.

Tabla 9. Encuentros diseñados entre adultos macho y hembra del Tuco-Tuco de Anillaco para caracterizar el comportamiento y las vocalizaciones producidas durante el cortejo. Las letras mayúsculas indican la identidad de los dos individuos utilizados en cada encuentro (machos primero [M], hembras después [H]) y el número entre paréntesis indica la cantidad de encuentros en cada pareja (n).

Individuos en cada encuentro (n° de encuentros)	Año		
	2014	2015	2016
	M-H-n	M-H-n	M-H-n
	A-C (3)	A-C (2)	F-J (2)
	A-D (2)	A-E (2)	F-K (1)
	B-C (3)	B-C (2)	G-J (2)
	B-D (2)	B-E (2)	G-L (2)
			H-K (1)

Caracterización acústica de las vocalizaciones

Se caracterizó acústicamente las notas pulsadas y las notas armónicas de los machos con los parámetros: frecuencia mínima, frecuencia máxima, pico de frecuencia y duración 90% (ver Apéndice 1 y 2). En las sucesiones de notas pulsadas calcule además la duración del silencio entre notas (Figura 15). Se estandarizo las mediciones de los parámetros de frecuencia de las vocalizaciones utilizando un umbral de -15 dB en las notas armónicas y de -10 dB en las notas pulsadas con respecto al pico de energía (ver Apéndice 1). En cada encuentro se analizó 20 notas pulsadas y la duración de los silencios entre estas y todas las notas armónicas producidas por los machos. En total se analizó 520 notas pulsadas y 520 silencios entre notas pulsadas y 310 notas armónicas (95 macho A; 105 macho B; 46 macho F; 38 macho G; 26 macho F).

Se eligió caracterizar acústicamente sólo las vocalizaciones de los machos debido a que 1) los machos produjeron la mayor cantidad de vocalizaciones durante los encuentros y 2) estas vocalizaciones tuvieron mayor

intensidad que las pocas vocalizaciones de hembras, permitiendo caracterizaciones acústicas precisas. Se obtuvo la certeza de que las vocalizaciones analizadas fueron producidas por los machos mediante dos criterios distintos. Primero, cuando los machos vocalizaron lejos de la hembra fue posible detectar la fuente de origen del sonido. Segundo, cuando los machos vocalizaron cerca de la hembra pudimos observar contracciones de la zona abdominal de los machos durante la vocalización. Aquellas vocalizaciones en las que no pudo precisarse el sexo del emisor no fueron analizadas.

Examinando los espectrogramas de las notas armónicas se buscaron los fenómenos no lineales; y para conocer cuan frecuentes son, se cuantifico la cantidad de cada tipo de fenómeno no lineal respecto al total de notas armónicas analizadas.

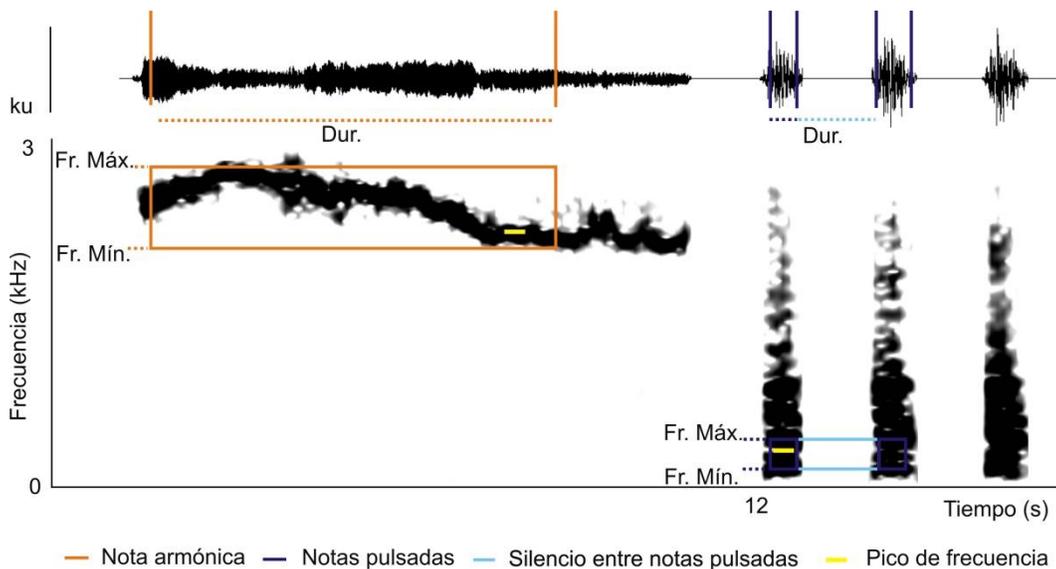


Figura 15. Vocalización de corta distancia de un macho adulto del Tuco-Tuco de Anillaco durante el cortejo. Mostramos las selecciones estandarizadas bajo umbrales relativos de energía de una nota armónica (selección color naranja), dos notas pulsadas (selecciones color violeta) y un silencio entre notas (selección color celeste). Indicamos para cada selección los parámetros acústicos utilizadas para caracterizar las notas: duración 90% (Dur.), frecuencia mínima (Fr. Mín.), frecuencia máxima (Fr. Máx.) y pico de energía (línea amarilla).

Análisis del comportamiento de los individuos

De cada encuentro, se caracterizó el comportamiento de los individuos analizando 10 minutos posteriores al primer comportamiento de contacto (ver más abajo). Se analizó el comportamiento de dos maneras diferentes:

A. Se evaluó el comportamiento de los individuos durante los encuentros, establecimos un punto de muestra instantáneo cada 15 segundos (40 puntos de muestreo por encuentro) en el que se categorizó *ad hoc* el comportamiento instantáneo de los individuos en cinco categorías:

- 1. Independencia:** individuos a una distancia mayor que la longitud del cuerpo (individuos alimentándose, auto-acicalándose, descansando, cavando o alejados luego de una pelea o una interacción de cortejo).
- 2. Proximidad:** individuos sin contacto a una distancia menor que la longitud del cuerpo.
- 3. Contacto:** individuos en contacto (individuo macho huele la zona genital de la hembra o individuos en contacto uno al lado de otro).
- 4. Monta o cópula:** individuo macho montado sobre la hembra en intento de cópula o cópula propiamente dicha.
- 5. Pelea:** individuos peleando (individuos mordiéndose entre sí).

Se registró en cada punto de muestreo si el individuo macho vocalizaba y si eran notas pulsadas o notas armónicas. Mediante una prueba de Chi cuadrado se evaluó si hubo relación entre la producción de vocalizaciones de los machos y la proximidad a las hembras.

B. Se evaluó si hubo relación entre la producción de vocalizaciones de corta distancia de los machos y la monta o cópula a las hembras. Para esto, establecimos dos tipos de comportamientos:

- 1. Vocalización-monta o cópula:** dentro de los 15 segundos posteriores de producirse una vocalización hubo monta o cópula.
- 2. Sin vocalización-monta o cópula:** dentro de los 15 segundos antes de producirse monta o cópula no hubo vocalizaciones.

Resultados

Generalidades

En los 26 encuentros macho-hembra, los machos produjeron vocalizaciones de corta distancia formadas por notas pulsadas y notas armónicas (Figura 16).

Las notas pulsadas fueron sonidos de banda ancha y baja frecuencia (Tabla 10); y se produjeron de forma continuada y asociadas a notas armónicas (Figura 16) y también de forma discontinuada y no asociadas a notas armónicas (Figura 17).

Las notas armónicas fueron sonidos de banda estrecha y frecuencia media (Tabla 10), y se produjeron asociadas a notas pulsadas. Las notas armónicas presentaron una variada forma espectral (Tabla 10, Figura 21).

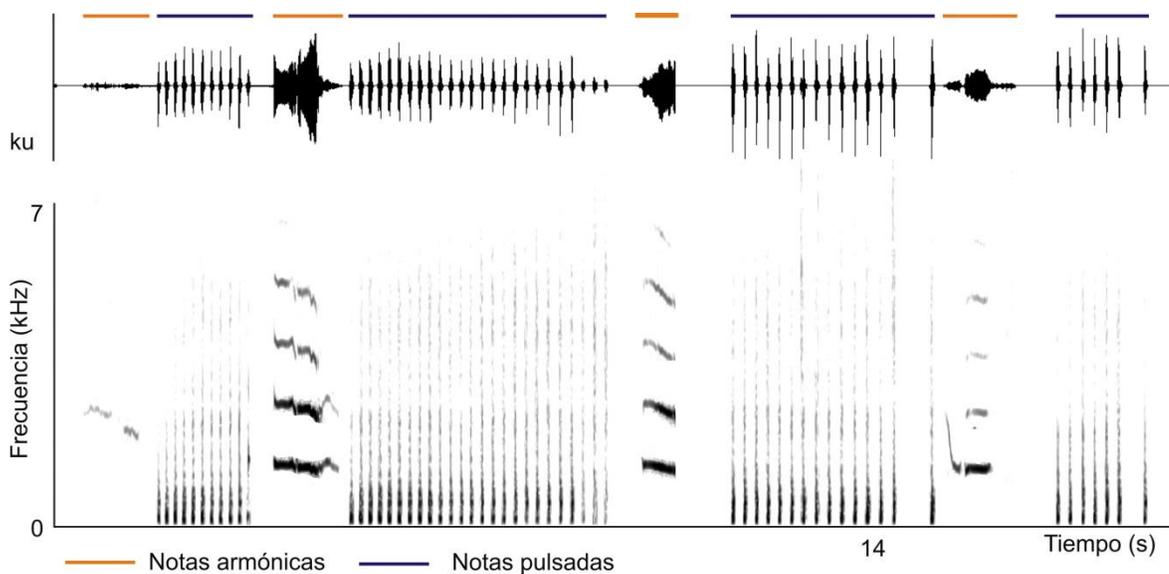


Figura 16. Oscilograma (gráfico superior) y espectrograma (gráfico inferior) de la vocalización de corta distancia de machos del Tuco-Tuco de Anillaco. Se indican las notas armónicas (línea naranja) y las notas pulsadas (línea violeta); Audio 13 (Apéndice 3).

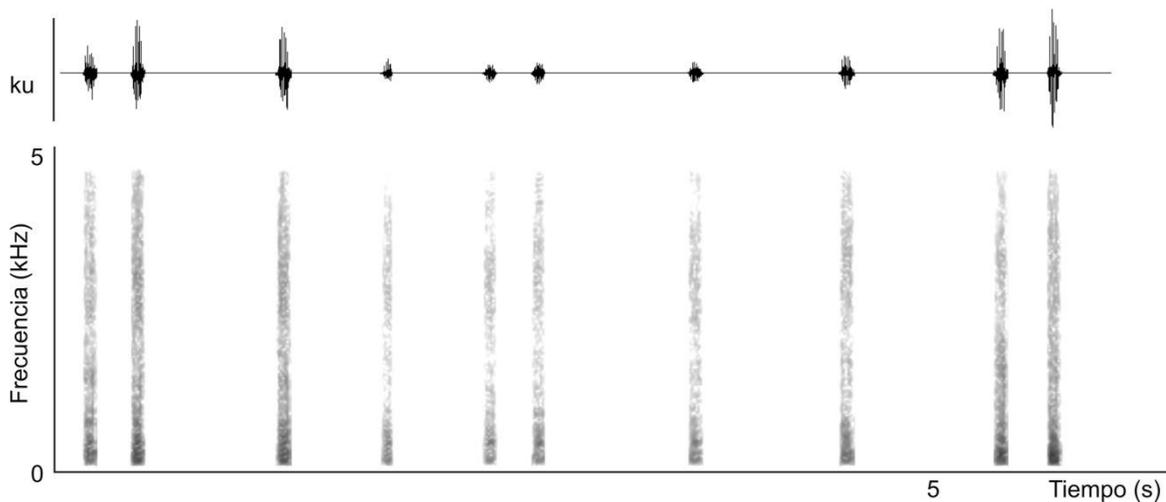


Figura 17. Oscilograma (gráfico superior) y espectrograma (gráfico inferior) de notas de discontinuadas sin relación a notas armónicas de machos del Tuco-Tuco de Anillaco; Audio 14 (Apéndice 3).

Tabla 10. Mediciones acústicas de las notas pulsadas y las notas armónicas de la vocalización de corta distancia de machos del Tuco-Tuco de Anillaco. Se indica la media \pm desvío y rango de; la duración 90% (ms), la frecuencia mínima (Hz), la frecuencia máxima (Hz) y el pico de frecuencia (Hz) de las notas pulsadas (N=520), y de las notas armónicas (N=310); y la duración de silencio entre notas pulsadas (N=500).

Parámetro	Notas pulsadas	Notas Armónicas
Duración 90% (ms)	48,93 \pm 9,66 (23,22-81,27)	550,44 \pm 345,84 (22,29-1.818,23)
Fr. Mínima (Hz)	168,93 \pm 52,54 (88,90-360,40)	915,56 \pm 322,06 (279,01-2.544,30)
Fr. Máxima (Hz)	552,56 \pm 169,13 (234,70-906,50)	1.302,86 \pm 436,50 (434,40-2.992,20)
Pico de frecuencia (Hz)	302,03 \pm 104,97 (161,50-775,20)	1.108,89 \pm 382,27 (355,30-2.625,01)
Silencio e/notas pulsadas (ms)	248,69 \pm 26,80 (81,27 -629,01)	-

Fenómenos no lineales en las notas armónicas

En el 24,3% de las notas armónicas se produjeron los fenómenos no lineales *caos determinístico* y *subarmónicos* (Figura 18, 20 y 21). Las notas armónicas con *caos determinístico* representaron el 11,7% (N=37), mientras que las con *subarmónicos* representaron el 12,6% (N=40).

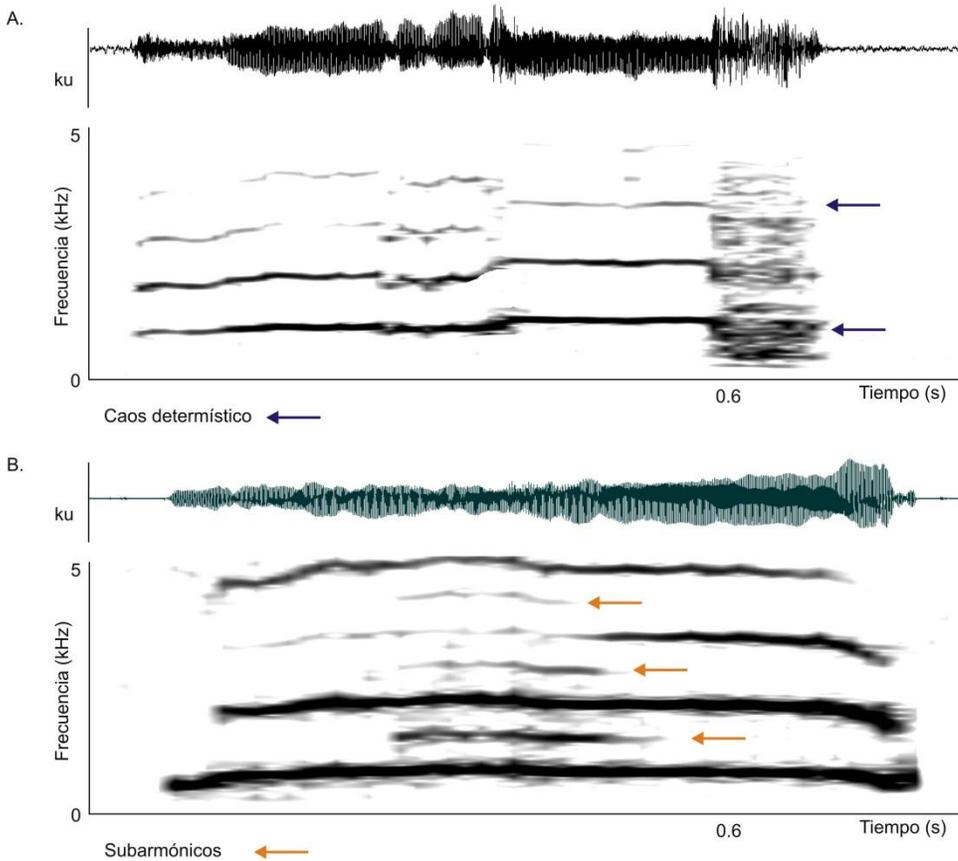


Figura 18. Fenómenos no lineales en las notas armónicas de la vocalización de corta distancia de machos del Tuco-Tuco de Anillaco. A. *Caos determinístico* (flechas violeta). B. *Subarmónicos* (flechas naranja).

Vocalizaciones de corta distancia de hembras

Aunque las vocalizaciones de los machos fueron las que predominaron durante los 26 encuentros macho-hembra, también hubo vocalizaciones por parte de las hembras. Estas fueron notas pulsadas discontinuas

(Figura 17) y posiblemente también produjeron notas armónicas (Figura 19). Sin embargo, las notas armónicas de las hembras no pudieron ser individualizadas, de modo que no fueron tenidas en cuenta en el análisis. Estas posibles notas armónicas de las hembras siempre se emitieron de forma asociada con notas armónicas de los machos. En una ocasión, se produjeron notas armónicas que podrían ser de una hembra entre notas pulsadas de un macho (Figura 19).

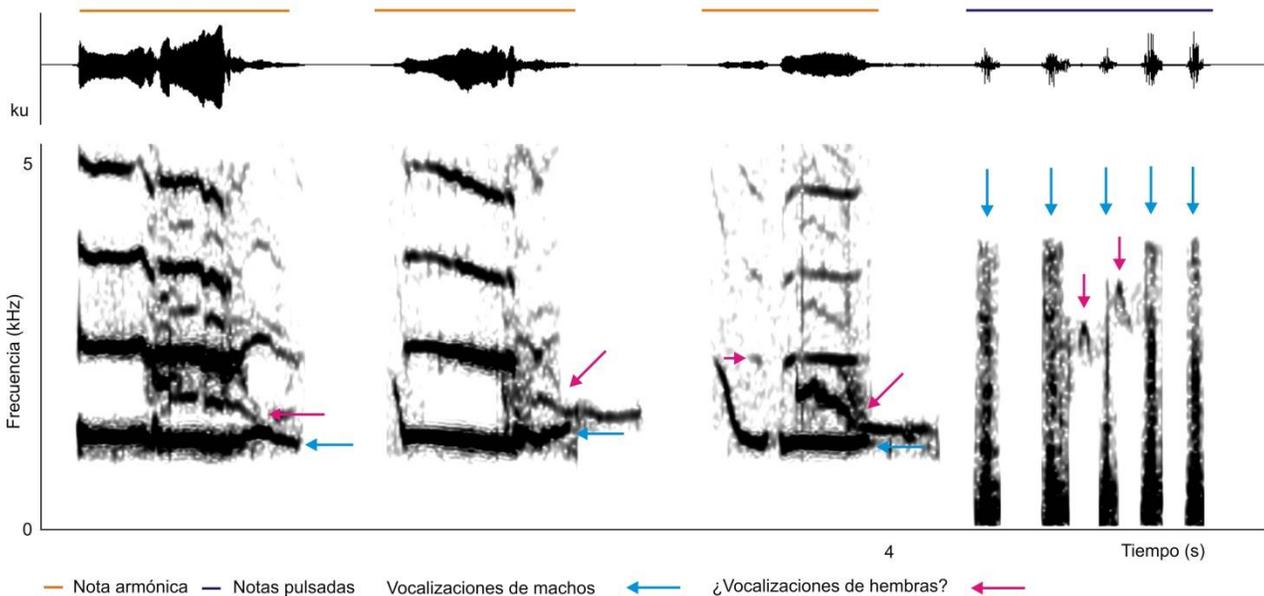


Figura 19. Vocalizaciones de corta distancia del Tuco-Tuco de Anillaco. Notas pulsadas (línea violeta) y notas armónicas (línea naranja). Se indican las notas armónicas y pulsadas de los machos (flechas celestes) y las posibles notas armónicas de las hembras (flechas fucsia). En la sucesión de notas pulsadas de un macho se ven notas armónicas que podrían ser de una hembra.

Comportamiento de los individuos durante los encuentros

Durante los 26 encuentros, los individuos machos y hembras presentaron mayor cantidad de comportamientos de cercanía (proximidad, contacto, monta o cópula) seguido de independencia y muy pocas peleas (Figura 18, Tabla 11). Los machos produjeron notas pulsadas tanto en independencia como en proximidad, contacto, monta y cópula (Figura 20). Por otro lado, los machos produjeron notas pulsadas en proximidad, contacto, monta y cópula (Figura 20). La producción de vocalizaciones de corta distancia se asoció a los comportamientos proximidad, contacto y monta o cópula (Chi Cuadrado Pearson=83,22 $p < 0,0001$).

En los 26 encuentros macho-hembra se registraron 179 comportamientos de monta o cópula, y el 74,8 % de las veces fueron precedidos por vocalizaciones de corta distancia de los machos, mientras que el 25,2% no fue precedido por vocalizaciones de corta distancia.

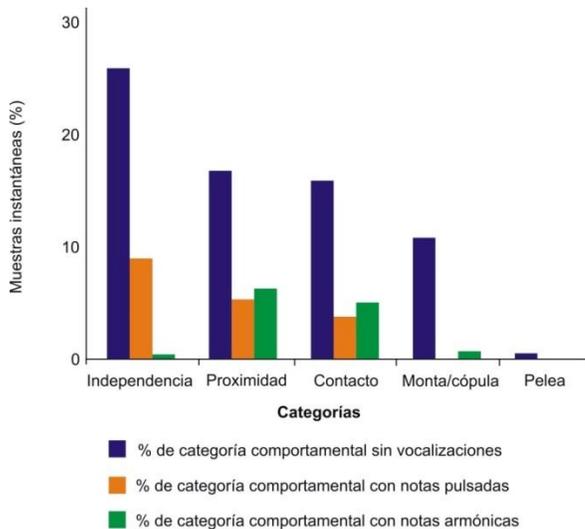


Figura 20. Comportamiento de los individuos del Tuco-Tuco de Anillaco durante los 26 encuentros macho-hembra realizados en laboratorio. Se indica el porcentaje de muestra instantánea para cada tipo de comportamiento sin vocalizaciones, con notas pulsadas y con notas armónicas.

Tabla 11. Caracterización del comportamiento de los individuos analizando del Tuco-Tuco de Anillaco (*Ctenomys* sp.) durante los encuentro macho-hembra. Indicamos los valores de muestra instantánea para cada categoría comportamental sin vocalizaciones, con notas pulsadas y con notas armónicas.

Categoría comportamental	N (sin vocalizaciones)	N (con notas pulsadas)	N (con notas armónicas)
Independencia	366	93	4
Proximidad	294	55	65
Contacto	256	39	52
Monta/copula	119	0	7
Pelea	5	0	0
N	1040	187	128

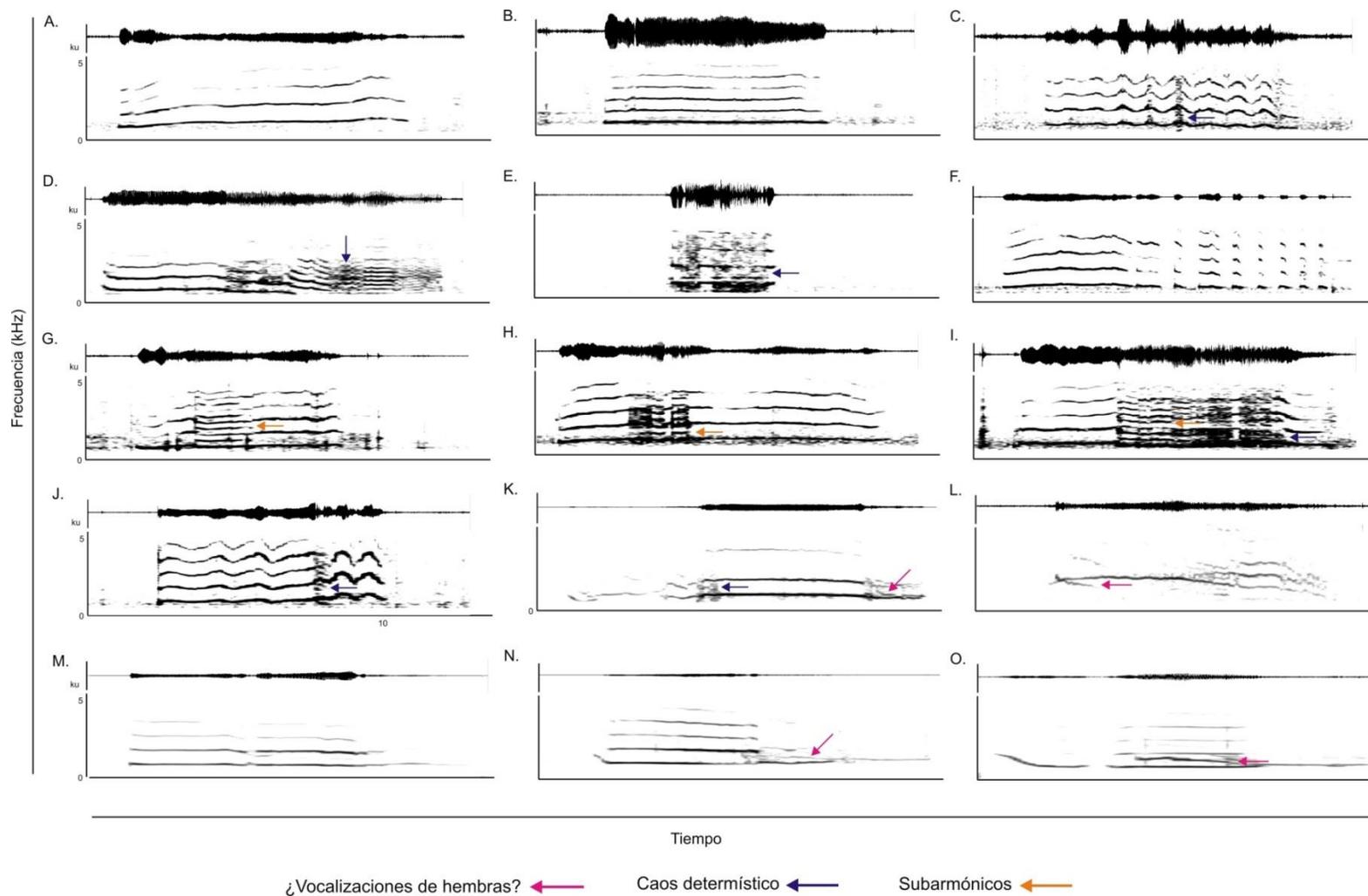


Figura 21. Variabilidad de notas armónicas producidas por machos del Tuco-Tuco de Anillaco. Se indican los fenómenos no lineales *caos determinístico* (flechas violetas) y *subarmónicos* (flechas naranjas); y las posibles vocalizaciones de las hembras (flechas fucsia).
 A. Audio 15; B. Audio 16; C. Audio 17; D. Audio 18; E. Audio 19; F. Audio 20; G. Audio 21; H. Audio 22; I. Audio 23; J. Audio 24; K. Audio 25; L. Audio 26; M. Audio 27; N. Audio 28; O. Audio 29 (Apéndice 3).

Discusión

Generalidades

En este capítulo se muestra que las vocalizaciones de corta distancia de los machos del Tuco-Tuco de Anillaco están formadas por dos tipos de notas: las notas pulsadas y las notas armónicas. Las notas pulsadas son sonidos de baja frecuencia y de banda ancha que pueden ser emitidas como un continuo de notas pulsadas y también de forma discontinua. Las notas pulsadas pueden producirse en relación a las notas armónicas y también de forma independiente. Las notas armónicas son sonidos de frecuencia alta (comparadas con las notas pulsadas y la vocalización de larga distancia) con una variada forma espectral y se producen asociadas a notas pulsadas continuas. Como parte de su estructura espectral, las notas armónicas pueden tener fenómenos no lineales como: *subarmónicos* y *caos determinístico*.

Los machos emiten vocalizaciones de corta distancia durante el cortejo. Las notas pulsadas se producen tanto cuando el macho está lejos como cerca de la hembra, mientras que las notas armónicas principalmente se producen cuando el macho está cerca de la hembra y generalmente se antepone a la monta o cópula.

Si bien las vocalizaciones de corta distancia son producidas en gran medida por los machos, las hembras también producen notas pulsadas de forma discontinuada y hay indicios de que también producen notas armónicas, aunque éstas no fueron registradas de manera fehaciente como en los machos.

Comparación con otras especies de *Ctenomys*

Las vocalizaciones de corta distancia producidas durante el cortejo en el Tuco-Tuco de Anillaco muestran similitudes y diferencias con las estudiadas en *C. pearsoni* (Francescoli 1999) y *C. talarum* (Schleich & Busch 2002a). Las similitudes se encuentran en las notas pulsadas, estas son producidas por machos y hembras en el Tuco-Tuco de Anillaco y en *C. pearsoni* (“gruñidos”), mientras que exclusivamente por los machos en *C. talarum* (“vocalizaciones de cortejo”). Las diferencias se encuentran en las notas armónicas que en el Tuco-Tuco de Anillaco son producidas principalmente por los machos, mientras que en

C. pearsoni (señales “Tipo C”) y en *C. talarum* (“vocalizaciones de cortejo”) son producidas exclusivamente por las hembras.

De esta manera, la diferencia se centra en la identidad de los emisores de las notas armónicas, que son las hembras en *C. pearsoni* y *C. talarum*, y principalmente los machos en el Tuco-Tuco de Anillaco. Esto implicaría una diferencia biológica importante entre las especies, dado que las vocalizaciones de corta distancia en los roedores subterráneos constituyen un modo primario de comunicación entre individuos durante el cortejo en la oscuridad de los túneles (junto con las señales químicas y táctiles) (Nevo 1979). Entonces si estas señales son producidas por el emisor para estimular y persuadir al receptor, en *C. pearsoni* y *C. talarum* los emisores serían las hembras y los receptores los machos, mientras que en el Tuco-Tuco de Anillaco los emisores serían los machos y los receptores, las hembras. De este modo, el cortejo sería realizado por las hembras en *C. pearsoni* y *C. talarum* y por los machos en el Tuco-Tuco de Anillaco.

Por otro lado, no puede descartarse la posibilidad de que se hayan producido errores en la toma de datos durante los trabajos citados anteriormente. En este capítulo, por dos criterios distintos, existe la certeza de que las notas armónicas fueron producidas por los machos: 1) cuando los machos vocalizaron alejados de la hembra fue fácil identificar la fuente de sonido; 2) cuando los machos vocalizaron cerca de las hembras, se observaron contracciones en la zona abdominal de los machos al momento de vocalizar. Sin embargo, durante los encuentros macho-hembra realizados en este capítulo, hubo vocalizaciones que no fue posible adjudicar a los machos, pero tampoco a las hembras. En Francescoli (1999) y Schleich & Bush (2002a) no se informa cómo determinaron que las notas armónicas eran producidas por las hembras, y esto deja abierta la posibilidad de considerar la existencia de un error en la toma de datos, o que realmente existan diferencias biológicas importantes entre *C. pearsoni* y *C. talarum*, y el Tuco-Tuco de Anillaco.

Al respecto, es interesante analizar las diferencias que presentan las especies de *Ctenomys* en las vocalizaciones de larga distancia. Recordando parte de la discusión del capítulo 2, Francescoli & Quirici (2010) describieron dos tipos de patrones de vocalización de larga distancia: Tipo I y Tipo II. El Tipo I estaría presente en *C. talarum* (Schleich &

Busch 2002a; Francescoli & Quirici 2010) y en sentido amplio en el Tuco-Tuco de Anillaco (Amaya et al. 2016), esta es emitida principalmente por los machos; mientras que el Tipo II estaría presente en *C. pearsoni* (Francescoli & Quirici 2010) y es emitida por machos y hembras (Francescoli 2011). Relacionando estas diferencias de las vocalizaciones de larga en las tres especies de *Ctenomys*, con las diferencias en las notas armónicas producidas durante el cortejo, se puede interpretar que entre *C. pearsoni* y el Tuco-Tuco de Anillaco hay diferencia en el tipo de vocalización de larga distancia, de modo que se podrían esperar diferencias en las vocalizaciones de corta distancia. Por otro lado, entre *C. talarum* y el Tuco-Tuco de Anillaco no habría diferencia en el tipo de vocalización de larga distancia y tampoco en los emisores, de modo que sería esperable que tampoco hubiera grandes diferencias en las vocalizaciones de corta distancia.

Sin duda, la verificación de estas diferencias acerca de quiénes son los emisores de las notas armónicas en *Ctenomys*, si son los machos, las hembras o ambos, requiere investigaciones futuras más extensas, con una metodología objetiva para resolver si estas diferencias son producto de la biología de *Ctenomys* o una derivación de la metodología usada.

Fenómenos no lineales

Los fenómenos no lineales constituyen un nuevo aspecto en las vocalizaciones de *Ctenomys*. En las notas armónicas del Tuco-Tuco de Anillaco se produjeron dos tipos de fenómenos no lineales, los *subarmónicos* y el *caos determinístico*. Sin embargo, la presencia de *bifonaciones* en las notas armónicas es discutible. La *bifonación* es una vocalización formada por frecuencias independientes sin una relación armónica entre ellas y emitidas en forma simultánea (Fitch et al. 2002). Si bien en las notas armónicas de los machos encontramos estructuras armónicas con estas características (Figura 19 y 21), es difícil establecer que sean *bifonaciones* y no notas armónicas de las hembras que se producen al unísono con las notas armónicas de los machos. En todos los casos donde se registraron posibles *bifonaciones*, el macho y la hembra se encontraban juntos de modo que no fue posible establecer el origen de estas bandas de frecuencia independiente que se acoplan a las notas armónicas de los machos.

La presencia de fenómenos no lineales en las notas armónicas es llamativa, ya que, al menos en mamíferos, la presencia de dichos fenómenos puede tener origen en el desacoplamiento entre la presión aerodinámica en la glotis y las fuerzas biomecánicas de las cuerdas vocales (Wilden et al. 1998). La presión aerodinámica se relaciona con la cantidad de energía que es utilizada para la producción de la vocalización, de modo que se esperaría encontrar más fenómenos no lineales en las vocalizaciones de mayor intensidad que en aquellas de menor intensidad. En *Ctenomys* las vocalizaciones de mayor intensidad son las vocalizaciones de larga distancia (Francescoli 1999; Schleich & Busch 2002a; Amaya et al. 2016; Capítulo 2) y las de menor intensidad son las notas armónicas (“Tipo C” en Francescoli (1999) y “vocalizaciones de cortejo” en hembras en Schleich & Busch (2002a)), de modo que sería más esperable encontrar fenómenos no lineales en las vocalizaciones de larga distancia que en notas armónicas. Sin embargo, en el Tuco-Tuco de Anillaco sucede exactamente lo contrario, i.e. los fenómenos no lineales constituyen una parte importante de la estructura de las notas armónicas no así de la vocalización de larga distancia.

La presencia de fenómenos no lineales en las notas armónicas producidas durante el cortejo abre una nueva dimensión en los estudios bioacústicos de *Ctenomys* y son necesarias investigaciones más profundas para conocer si realmente constituyen elementos propios de cada individuo y si tienen una función determinada.

Capítulo 5 Conclusiones generales

En esta tesis doctoral estudiamos aspectos de la comunicación acústica del Tuco-Tuco de Anillaco. Estos estudios muestran que las vocalizaciones en esta especie de *Ctenomys* son utilizadas principalmente en dos contextos comunicacionales: la territorialidad (Capítulo 2) y la reproducción (Capítulo 3). Los comportamientos de territorialidad estuvieron asociados a las vocalizaciones de larga distancia. Mientras, que los comportamientos reproductivos estuvieron asociados a las vocalizaciones de corta distancia. En ambos casos, las vocalizaciones fueron producidas principalmente por los machos. Las características acústicas de las vocalizaciones de larga distancia y las de corta distancias presentan marcadas diferencias en su estructura, correlacionándose con la función de cada una.

Las vocalizaciones de larga distancia son sonidos largos, con un pico de frecuencia de 200 Hz aproximadamente, de banda ancha y alta intensidad; mientras que las vocalizaciones de corta distancia son sonidos más cortos, con un pico de frecuencia de 300 Hz aproximadamente en las notas pulsadas y de 2000 Hz en las notas armónicas, y de menor energía que las vocalizaciones de larga distancia. Estas características de los dos tipos de vocalizaciones del Tuco-Tuco de Anillaco se correlacionan con las estudiadas en otros roedores subterráneos, apoyando la idea de que especies no relacionadas filogenéticamente emiten vocalizaciones de larga distancia principalmente de bajas (20 a 300 Hz) y medias frecuencias (300 a 2000 Hz) (Heth et al. 1988; Credner et al. 1997; Francescoli 1999; Veitl & Burda 2000; Schleich & Busch 2002). A su vez, esto representaría una forma de adaptación de los roedores subterráneos a las restricciones impuesta por el su ambiente, ya que las vocalizaciones de baja y media frecuencia se transmiten más eficientemente en este medio en comparación con las vocalizaciones de alta frecuencia, que son utilizadas en la comunicación a corta distancia (Heth et al. 1986; Lange et al. 2006; Schleich & Antenucci 2009).

La similitud en las propiedades acústicas de las vocalizaciones y la capacidad auditiva de los roedores subterráneos, representa un interesante y llamativo modelo de coevolución entre las propiedades acústicas del ambiente, la comunicación acústica y la

capacidad auditiva (Heth et al. 1986; Heffner & 1992; Brückmann & Burda 1997; Heffner et al. 2001; Lange et al. 2006; Schleich & Antenucci 2009). Si bien en esta tesis no se han realizados estudios relacionados a la capacidad auditiva del Tuco-Tuco de Anillaco, podemos tener una aproximación deductiva sobre esta, pensando en la relación mutua existente entre las características de las vocalizaciones de una especie y su capacidad auditiva. En las especies de roedores subterráneos en que ambos aspectos fueron estudiados, se encontró que la audición está enfatizada hacia las bajas y medias frecuencias, y restringido hacia las altas frecuencias (Heffner & Heffner 1990, 1993; Brückmann & Burda 1997; Begall et al. 2004). De este modo, se correlaciona con las propiedades acústicas de las vocalizaciones emitidas. Por la tanto, a partir de la baja frecuencia de las vocalizaciones de larga distancia del Tuco-Tuco de Anillaco podemos anticipar que éste va a presentar capacidades auditivas similares a otros roedores subterráneos.

El género *Ctenomys* representa un fascinante grupo para estudios bioacústicos. Con más de 60 especies descritas (Bidau 2015), una amplia distribución geográfica en múltiples ambientes, y un marcado gradiente de sociabilidad (habiendo especies estrictamente solitarias como *C. mendocinus* (Cuello, comunicación personal), estrictamente sociales como *C. sociabilis* (Lacey et al. 1997) y especies que se encuentran entre estos dos extremos como *C. rionegrensis* (Tassino et al. 2011). Los *Ctenomys* ofrecen un amplio abanico de oportunidades para estudios comparados de evolución y comunicación acústica. Conocer las similitudes y diferencias en sus vocalizaciones de acuerdo al grado de relación filogenética, a su tipo de ambiente y a su modo de vida, representa el gran objetivo de nuestras investigaciones futuras.

Como se mencionó a lo largo de esta tesis, hasta la fecha solo se habían realizado estudios bioacústicos en *C. pearsoni* (Francescoli 1999; Francescoli 2001; Francescoli 2002; Francescoli & Quirici 2010; Francescoli 2011) y *C. talarum* (Schleich & Busch 2002a; Schleich & Busch 2002b), siendo el Tuco-Tuco de Anillaco la tercer especie de la que se conocen aspectos de la comunicación. A lo largo de los distintos capítulos, expusimos las similitudes y diferencias que encontramos entre las tres especies tanto en la estructura de las vocalizaciones, el repertorio vocal como en el contexto comportamental asociado a las

mismas. Sin embargo, las comparaciones de la estructura acústica de las vocalizaciones entre las tres especies no pudieron ser fehacientes ni precisas, debido a la falta de una metodología objetiva en el análisis de las vocalizaciones de *C. pearsoni* y *C. talarum*. En esta tesis desarrollamos una serie de metodologías rigurosas, objetivas y replicables para cuantificar las características de las vocalizaciones del Tuco-Tuco de Anillaco. Esto constituye un aspecto de central importancia que abre la puerta para realizar de aquí en más estudios bioacústicos comparativos de *Ctenomys*.

Los esfuerzos de esta tesis se concentraron en conocer la forma y función de las vocalizaciones de larga (Capítulo 2) y corta distancia (Capítulo 4), así como también parte del desarrollo ontogenético de la vocalización de larga distancia (Capítulo 3) del Tuco-Tuco de Anillaco .

La vocalización de larga distancia (Capítulo 2) presentó características acústicas similares a las descritas para *C. pearsoni* y *C. talarum* (baja frecuencia, banda ancha y alta intensidad). Sin embargo, nuestros análisis de los elementos estructurales de la vocalización revelaron una inesperada complejidad en su composición rítmica. Encontramos una pronunciada variación entre las vocalizaciones de distintos individuos en relación con el número de series, los tres tipos de series (díadas, tríadas y tétradas), y un variable número de notas individuales. Estas tres características dieron como resultado vocalizaciones con una diversa colección de patrones sintácticos que podrían proporcionar a estas vocalizaciones la oportunidad de codificar múltiples tipos de información. Este aporte abre una nueva línea de investigación en cuanto al tipo de información que se transmite a través de estas vocalizaciones, que además de ser señales territoriales para minimizar los encuentros agresivos, especialmente entre los machos, podrían contener otros tipos de información.

En cuanto al desarrollo ontogenético de la vocalización de larga distancia (Capítulo 3), esta representa una novedosa línea de investigación dentro de *Ctenomys*, ya que no existía información cuantificable acerca del modo de desarrollo de ninguna vocalización en el género. La vocalización de larga distancia tiene un desarrollo mixto, incluyendo un segmento que se desarrolla a partir de claros precursores ontogenéticos en los juveniles (las series) y otro segmento conformado por sonidos que aparecen *de novo* (las notas

individuales). La vocalización con características de adultos aparece cuando los juveniles tienen más de 100 días de vida y un peso mayor a 150g, por lo cual sería interesante establecer a qué momento biológico corresponde esta edad, es decir, la madurez de la vocalización de larga distancia ¿ocurre antes o después de la maduración sexual? ¿O su madurez está relacionada al momento dispersión y el establecimiento en un propio sistema de túneles? Conocer estas respuestas permitirá otorgarle un marco biológico más completo al desarrollo ontogenético de la vocalización de larga distancia en *Ctenomys*.

Las vocalizaciones de corta distancia del Tuco-Tuco de Anillaco (Capítulo 4) son de dos tipos: las notas pulsadas y las notas armónicas. Encontramos que éstas son producidas principalmente por los machos durante el cortejo. Esto representa importantes diferencias con las vocalizaciones de corta distancia descritas en *C. pearsoni* Francescoli (1999) y en *C. talarum* (Schleich & Busch 2002a) donde las vocalizaciones son producidas principalmente por las hembras. Como parte de la estructura espectral de las vocalizaciones de corta distancia del Tuco-Tuco de Anillaco, encontramos la presencia de fenómenos no lineales tales como *subarmónicos* y *caos determinístico* en las notas armónicas. Esto representa un novedoso hallazgo en la comunicación acústica de *Ctenomys* y nuevamente se abre una línea para profundizar en análisis que busquen arrojar luz en la posible función de los fenómenos no lineales y su protagonismo en los roedores subterráneos.

Las vocalizaciones de las hembras representan uno de los puntos mas enigmáticos con los que nos hemos enfrentado durante el desarrollo de esta tesis. Si bien encontramos que las hembras parecen producir los mismos tipos de vocalizaciones que los machos, la baja tasa de emisión con que éstas vocalizan no nos permitió caracterizarlas con precisión ni interpretar su contexto biológico adecuadamente. Por esto, son necesarios estudios más profundos para abordar la bioacústica de las hembras del Tuco-Tuco de Anillaco.

Apéndice 1: Estandarización de las mediciones en las señales vocalizaciones de corta distancia

Introducción

En los estudios bioacústicos, las mediciones utilizadas para caracterizar las señales de interés son fundamentales ya que muchas veces constituyen la base sobre la luego se construyen las investigaciones. Las mediciones generalmente utilizadas para caracterizar las señales acústicas son aspectos de la frecuencia fundamental, la duración o el ancho de banda de la misma. Probablemente, los valores de frecuencia son la característica más utilizada para el análisis de la variación de las señales acústicas (Zollinger et al. 2012).

En la literatura de trabajos bioacústicos, se encuentran estas tres formas de medir las características de una señal: 1) con mediciones realizadas manualmente sobre el espectrograma, 2) con mediciones de tendencia central y 3) con mediciones de umbral con respecto a picos de energía. Las mediciones realizadas manualmente sobre el espectrograma (Francescoli 1999; Amorim & Vasconcelos 2006) dependen totalmente de

los criterios de valoración del investigador en tiempo y en frecuencia del espectrograma, esto implica extraer los valores observando el espectrograma y posicionando el cursor del mouse en la parte del espectrograma que el investigador considere que represente la medida que se está considerando (Zollinger et al. 2012). De este modo, las mediciones realizadas manualmente sobre el espectrograma, tienen la inherente problemática de ser no ser replicables. Las mediciones de tendencia central (Fuller 2014; Peixoto et al. 2016), tienen en cuenta la energía que es esta almacenada en la selección realizada sobre el espectrograma; por lo que los pequeños cambios en los límites de la selección tienen poco efecto en los valores calculados, algunos ejemplos de medidas de tendencia central son; frecuencia 5%, frecuencia 95%, ancho de banda 90%, 1° cuartil en frecuencia, 3° cuartil en frecuencia y rango inter-cuartil. Las mediciones a partir de umbrales de energía, incluyen en el análisis la misma cantidad de energía por debajo del pico de frecuencia de la señal, independientemente de las diferencias de amplitud con las que fueron registradas las vocalizaciones producto de las distintas distancias a las que fue colocado el micrófono al momento de la grabación. Las mediciones en frecuencia a partir de umbrales con respecto a picos de energía, se realizan sobre el espectro en donde la frecuencia mínima y máxima de la señal de interés se mide como el ancho de banda a partir de cierta cantidad de decibeles menor al pico de energía de la señal (Zollinger et al. 2012). Este método es una práctica relativamente estable en bioacústica (Podos 1997; Fischer et al. 1998; Gerhardt & Huber 2002).

El objetivo de este apéndice es mostrar y evaluar el método de estandarización manual a partir de umbrales de energía para las mediciones en frecuencia, y la estandarización a partir de medidas de tendencia central (para las mediciones en tiempo) utilizado para caracterizar las vocalizaciones de corta distancia del Tuco-Tuco de Anillaco.

Materiales y Métodos

A partir de las vocalizaciones obtenidas durante los encuentros entre individuos macho y hembra realizados para conocer las vocalizaciones asociadas al cortejo, analizamos 10 vocalizaciones con el método de estandarización a partir de umbrales de energía (para las mediciones en frecuencia) y la estandarización a partir de medidas de tendencia central

(para las mediciones en tiempo). Las 10 vocalizaciones fueron analizadas 10 veces cada una para comparar el método de estandarización de las mediciones sobre en una misma vocalización. Las mediciones se realizaron en 10 días sucesivos, en los cuáles se midieron las 10 vocalizaciones una vez por día con el objetivo de lograr independencia en las mediciones repetidas de una misma vocalización. Se utilizó el software Raven pro 1.4 (<http://www.birds.cornell.edu/Raven>) utilizando los siguientes parámetros del espectrograma y del espectro: Ventana: Hann, Tamaño: 512 muestras (= 10,7 ms), 3 dB del filtro ancho de banda: 135 Hz; Tiempo grip-overlap: 50%, Hop size: 256 muestras (= 5,33 ms); Frequency grid-DFT size: 4096 muestras, Grid spacing: 11,7 Hz. Las grabaciones fueron filtradas utilizando un bandpass filter entre 80-5000 Hz en Raven Pro 1.4 para eliminar fuentes de perturbación y distorsión en las mediciones acústicas, los rangos del filtro fueron elegidos para que este no afecte en ninguna medida a la señal de interés y a la vez para que elimine la mayor cantidad de ruido posible.

El análisis de cada vocalización fue realizado en cinco pasos sobre el oscilograma, espectro y espectrograma (Figura 22 A, B, C, D, E):

1. Sobre el *oscilograma* se seleccionó la duración total de la vocalización. Los límites iniciales y finales de esta selección fueron establecidos en los puntos en donde el *oscilograma* alcanzaba valores mínimos de energía (Figura 22 A).
2. A partir de esta selección se calculó sobre el espectro el pico de energía (Figura 22 B).
3. A partir del pico de energía (línea verde en Figura 22 B; en este ejemplo 140,4 dB), se utilizó la línea de marcación de Raven pro 1.4 para establecer el límite de -15 dB aproximado por debajo del pico de energía (línea rosa, Figura 22 C; en este ejemplo 125, 7dB, si la medición fuese exacta la línea de marcación tendría que estar en 125, 4 y no en 125, 7, pero lograr esto manualmente es dificultoso y requiere de mucho tiempo). De este modo, en el punto de cruzamiento de la línea de marcación con la línea del espectro del lado izquierdo se delimita la frecuencia mínima y en el punto de cruzamiento de la línea de marcación con la línea del espectro de lado derecho se delimita la frecuencia máxima. Así queda delimitada la señal en frecuencia a partir de un umbral de aproximadamente -15 dB por debajo del pico de energía. La señal

queda así delimitada *en el espectro*, por el área que abarcan aquellos valores de energía por encima del umbral y por debajo del Pico de energía (sombreado azul, [Figura 22 C](#)). Esta misma señal queda ahora delimitada *en el espectrograma*, por los valores de frecuencia mínima y máxima obtenidos en el espectro y por los puntos de inicio y fin en tiempo de la selección original (recuadro azul, [Figura 22 D](#)).

4. A partir de la nueva delimitación en el espectrograma, se calculan los parámetros Tiempo 5% y Tiempo 95 % (líneas naranjas, [Figura 22 E](#)). Con estos parámetros establecidos, se mueve el inicio y el final de la selección hacia la marcación del Tiempo 5% y Tiempo 95% respectivamente (línea punteada amarilla, [Figura 22 D](#)).
5. La delimitación final de la señal queda así objetivamente delimitada en el espectrograma en el eje de frecuencia con un umbral de -15 dB respecto del pico de energía y en el eje de tiempo con la duración 90% de la selección original.

De este modo, las mediciones en frecuencia de las vocalizaciones fueron estandarizadas con un umbral aproximado de -15 dB por debajo del pico de energía y todos los movimientos de las selecciones de las vocalizaciones se realizaron de forma manual. Decimos que la estandarización sería aproximadamente en -15 dB debido no tuvimos en cuenta los valores decimales ni del pico de energía (línea verde, [Figura 22 B](#)) ni de la barra de marcación del Raven pro (línea rosa, [Figura 22 C](#)), por esto la estandarización de las mediciones no fue exactamente la misma en las mismas vocalizaciones medidas en diferentes días. Esto es un parte fundamental de esta metodología ya que al no ser exacta la estandarización en -15 dB de una misma vocalización, las sucesivas mediciones pueden no ser iguales. Por ejemplo, se analizó dos veces una vocalización con un pico de energía de 126,7 dB. En el primer análisis, movimos la barra de marcación a 111,3 dB de modo que la estandarización fue realizada en - dB 15,4 por debajo del pico de energía ($126,7-111,3= 15,4$). En el segundo análisis, se movió la barra de marcación a 111,9 dB entonces esta señal fue estandarizada en -14,8dB respecto del pico de energía ($126,7-111,9= 14,8$). De esta forma, la misma vocalización fue estandarizada con valores diferentes respecto al pico de energía (aunque cercanos a -15 dB). Para que la estandarización de las mediciones exactamente de -15 dB respecto al

pico de energía, la barra de marcación tuviera que estar en 111,7 dB, pero tener esta precisión con el cursor del mouse es difícil de conseguir.

Los parámetros utilizados para la caracterización de las vocalizaciones en frecuencia fueron: frecuencia mínima y máxima, pico de frecuencia. Las mediciones en tiempo fueron estandarizadas a partir de la medida de tendencia central duración 90 %.

A partir de las 10 mediciones de frecuencia mínima, frecuencia máxima, pico de energía y duración 90% de cada vocalización de corta-distancia calculamos la media \pm desvío estándar, el rango y el coeficiente de variación (CV). El coeficiente de variación es el cociente entre la desviación estándar y la media muestral, expresado en porcentaje y fue calculado para comparar el grado de variación entre las mediciones en frecuencia realizadas a partir de un umbral de -15 dB por debajo del pico de energía, y en tiempo realizadas a partir de la medida de tendencia central duración 90%.

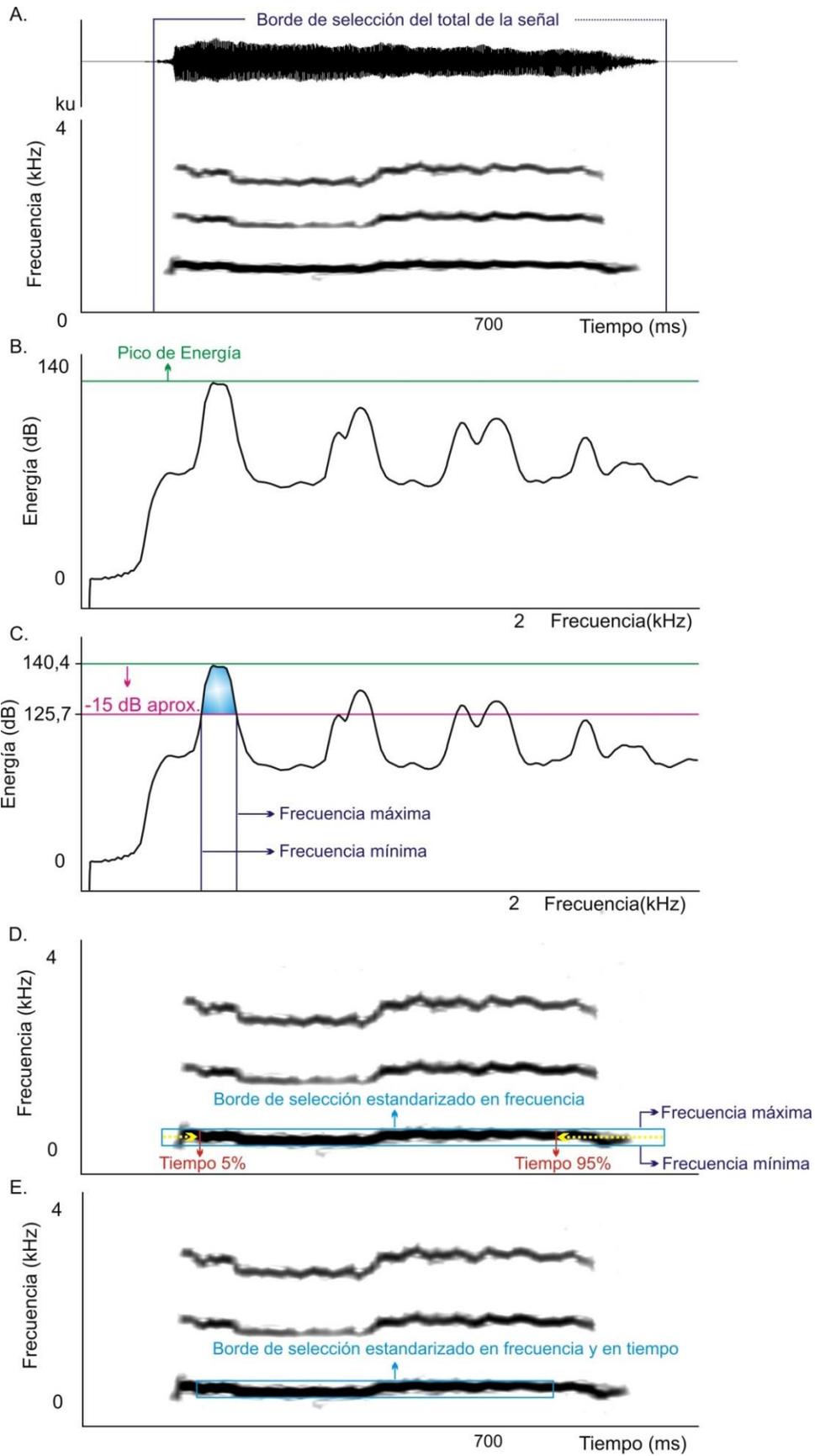


Figura 22. Método utilizado para la estandarización manual utilizando el Raven pro 1.4. de las mediciones acústicas en las vocalizaciones de corta-distancia del Tuco-Tuco de Anillaco. A. Oscilograma (gráfico superior) y espectrograma (gráfico inferior) indicando muestra la selección utilizada para la delimitación en tiempo y en frecuencia total de la vocalización. B. Espectro de la vocalización donde indicamos el pico de energía de la vocalización (140 dB, línea verde). C. Utilización de la línea de marcación de Raven pro 1.4 (línea rosa) para establecer los límites de frecuencia mínima y frecuencia máxima de la selección a partir un umbral de -15 dB respecto al pico de energía, marcado en la figura con un área sombreada de color azul. D. Espectrograma con un recuadro azul que indica el resultado de la estandarización de la frecuencia mínima y frecuencia máxima de la vocalización a partir de un umbral de -15 dB respecto al pico de energía. Sobre esta selección se calculan los parámetros tiempo 5% y tiempo 95% (líneas naranjas). Para estandarizar la vocalización en tiempo con la duración 90% se mueve el inicio de la selección hacia la marcación de Tiempo 5% (línea punteada amarilla) y el final de la selección hacia la marcación de Tiempo 95% (línea punteada amarilla). E. Espectrograma donde se muestra la selección final estandarizada en frecuencia y en tiempo.

Resultados

Las 10 mediciones realizadas para cada vocalización ([Figura 23](#)) con un umbral aproximado de -15 dB respecto al pico de energía de la vocalización presentaron una baja variabilidad en los parámetros acústicos utilizados para caracterizar las señales. Como era de esperar el valor de pico de frecuencia en las 10 mediciones de cada vocalización no vario. Sin embargo, se observan pequeñas diferencias entre las 10 mediciones de una misma vocalización en los valores de frecuencia mínima, frecuencia máxima y duración 90%, aunque estas diferencias nos bajas ([Tabla 12](#), [Figura 24](#)).

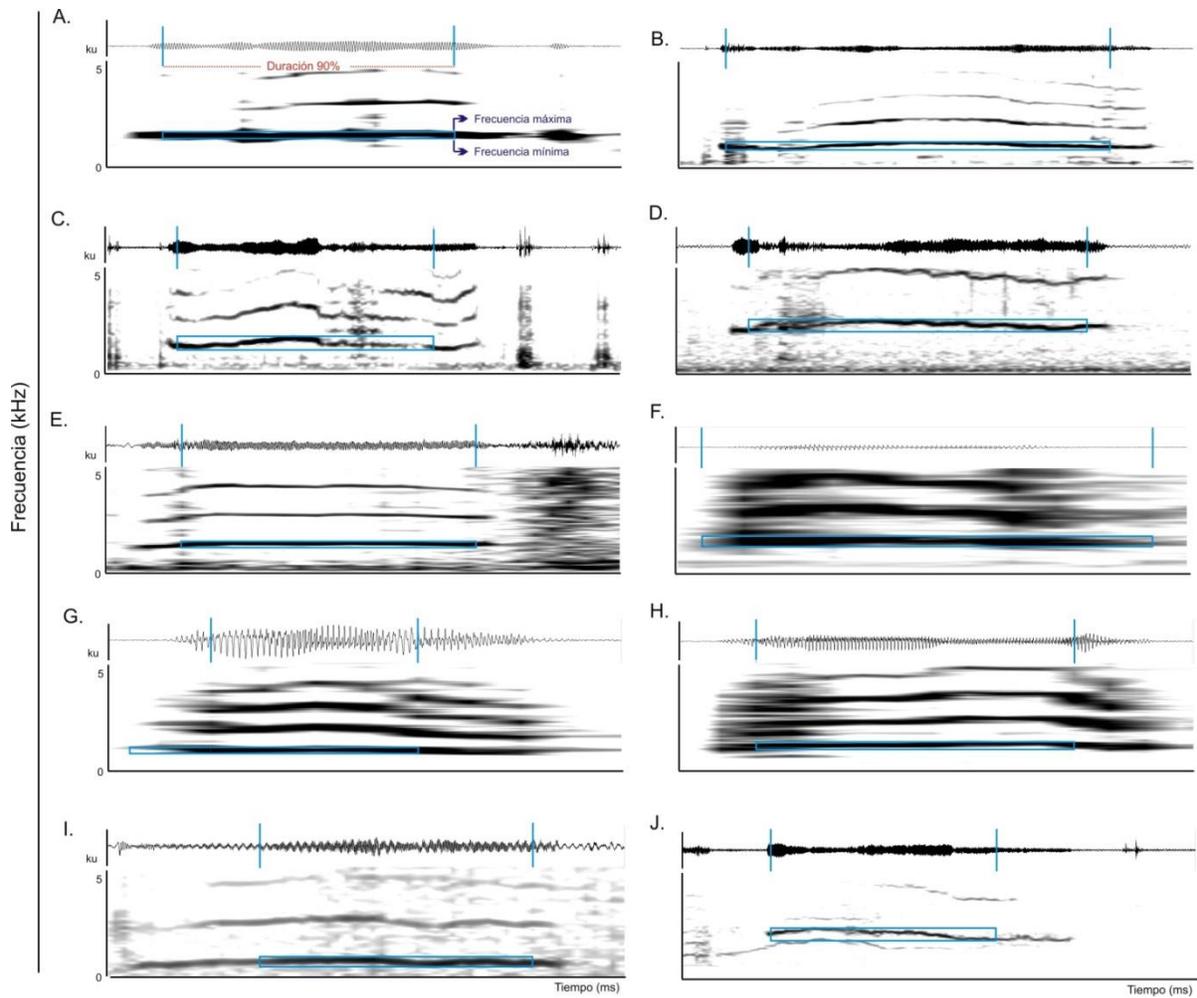


Figura 23. Vocalizaciones de corta distancia de Tuco-Tuco de Anillaco analizadas a partir de mediciones estandarizadas en aproximadamente -15 dB por debajo del pico de energía para mediciones de frecuencia mínima, frecuencia máxima y pico de frecuencia; y estandarizadas con la duración 90% para medir la duración de la vocalización. Indicamos las 10 vocalizaciones analizadas (A, B, C, D, E, F, G, H, I y J).

Tabla 12. Resultados de las mediciones de los parámetros acústicos frecuencia mínima (Fr. Mín.), frecuencia máxima (Fr. Máx.) y pico de frecuencia (Pico de Fr.) con un umbral de -15 dB por debajo del pico de energía; y de la duración 90% de las vocalizaciones. Se indican el N, la Media, el Desvío Estándar, el Coeficiente de Variación, el valor Mínimo y el valor Máximo para los parámetros acústicos para cada vocalización.

Vocalización	Parámetro	N	Media	D.E.	CV	Min.	Max.
A	Dur. 90%	10	0,1065	0,0007	0,6561	0,1045	0,1068
	Fr. Min.	10	821,59	2,52	0,31	818,1	826,9
	Fr. Max.	10	1029,59	2,77	0,27	1024,2	1033,7
	Pico de Fr.	10	937,5	0	0	937,5	937,5
B	Dur. 90%	10	0,7426	0,049	6,6039	0,6495	0,7669
	Fr. Min	10	649,04	1,69	0,26	645,7	651,5
	Fr. Max	10	994,23	1,26	0,13	992,4	995,9
	Pico de Fr.	10	872,1	0	0	872,1	872,1
C	Dur. 90%	10	0,8919	0,0053	0,5948	0,8813	0,8968
	Fr. Min	10	591,04	1,12	0,19	589,3	592,7
	Fr. Max	10	960,32	0,92	0,1	958,9	961,7
	Pico de Fr.	10	872,1	0	0	872,1	872,1
D	Dur. 90%	10	0,851	0,0519	6,103	0,8279	0,9986
	Fr. Min	10	1520,1	8,83	0,58	1515,5	1544,8
	Fr. Max	10	1967,13	14,56	0,74	1926,3	1974,8
	Pico de Fr.	10	1577,3	5,69	0,36	1571,9	1582,7
E	Dur. 90%	10	0,1971	0,004	0,1866	0,1969	0,198
	Fr. Min	10	921,55	3,01	0,33	916,5	926,8
	Fr. Max	10	1127,11	0,82	0,07	1125,6	1128,4
	Pico de Fr.	10	1065,9	0	0	1065,9	1065,9
F	Dur. 90%	10	0,0639	0,0001	0,1473	0,0639	0,0641
	Fr. Min	10	697,85	5,39	0,77	694,6	712,5
	Fr. Max	10	1003,74	3,89	0,39	994	1008,6
	Pico de Fr.	10	925,8	0	0	925,8	925,8
G	Dur. 90%	10	0,0449	0,0045	9,939	0,0427	0,0534
	Fr. Min	10	640,4	3,1	0,48	637,4	645,5
	Fr. Max	10	931,27	1,35	0,14	929,2	933,1
	Pico de Fr.	10	796,9	0	0	796,9	796,9
H	Dur. 90%	10	0,0856	0,006	0,7461	0,0852	0,0872
	Fr. Min	10	793,4	48,65	6,13	747,4	856,6
	Fr. Max	10	1056,84	15,19	1,44	1050,9	1100
	Pico de Fr.	10	937,5	0	0	937,5	937,5
I	Dur. 90%	10	0,3594	0,0009	0,2541	0,3574	0,3608
	Fr. Min	10	611,31	1,27	0,21	609,2	613,1
	Fr. Max	10	799,02	0,58	0,07	798,3	800,1
	Pico de Fr.	10	742,9	0	0	742,9	742,9
J	Dur. 90%	10	0,7795	0,0019	0,2498	0,7763	0,7823
	Fr. Min	10	1924,68	27,12	1,41	1847,7	1935,4
	Fr. Max	10	2593,27	2,19	0,08	2590,3	2597,1
	Pico de Fr.	10	2368,7	0	0	2368,7	2368,7

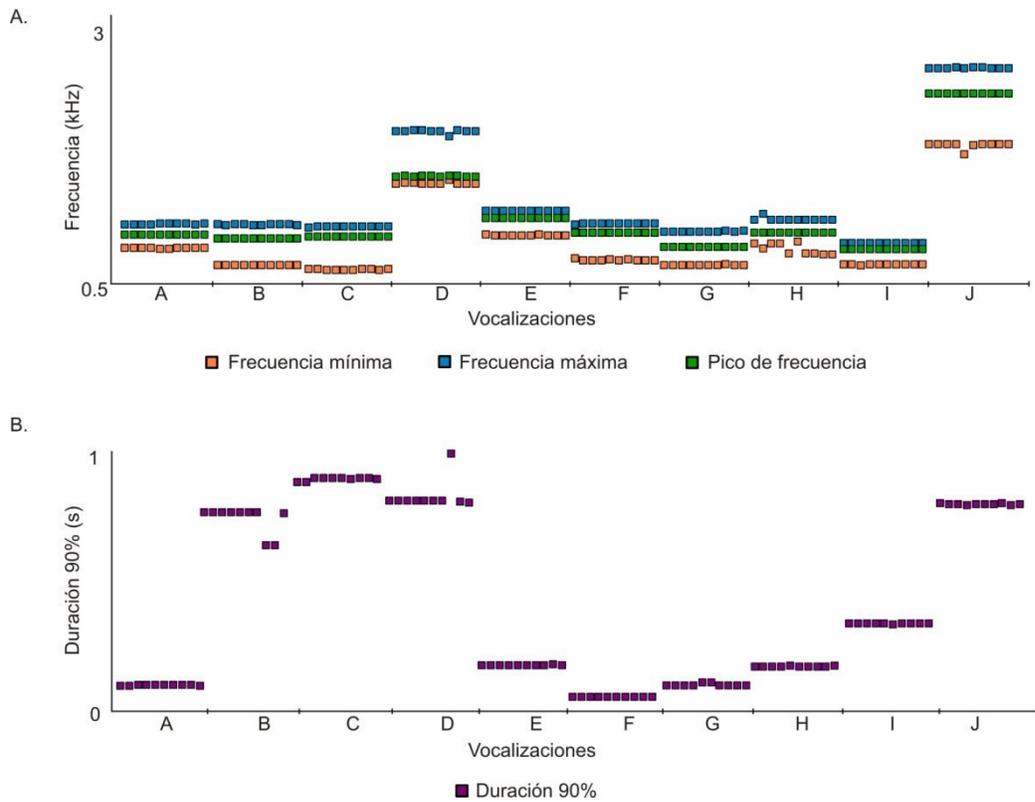


Figura 24. Resultados de las mediciones realizadas en 10 vocalizaciones utilizando un umbral aproximado de -15 dB por debajo del pico de energía para estandarizar las mediciones en frecuencia y el parámetro duración 90% para la estandarización en tiempo. A. Gráfico de dispersión de los valores de frecuencia mínima (cuadrado rojo), frecuencia máxima (cuadrado celeste) y pico de frecuencia (cuadrado verde) de las 10 mediciones realizadas en días sucesivos de las 10 vocalizaciones analizadas. B. Gráfico de dispersión de los valores de duración 90% (cuadrado violeta) de las 10 mediciones realizadas en días sucesivos de las 10 vocalizaciones analizadas.

Discusión

En este apéndice se pretende explicar el método de estandarización de las mediciones acústicas en las vocalizaciones de corta distancia del Tuco-Tuco de Anillaco. Se estandarizaron las mediciones acústicas en Raven pro 1.4 de forma manual, ya que el investigador mueve los bordes de selección que delimitan la señal a estudiar. De modo que en esta estandarización manual de las mediciones, el movimiento de los bordes de selección se realizan a partir de un umbral respecto al pico de energía para delimitar en frecuencia la vocalización, de esta forma calculamos la frecuencia mínima, la frecuencia máxima y el pico de frecuencia; y usamos la duración 90% (medida de tendencia central) de la señal ya delimitada en frecuencia medir la duración de la vocalización. El valor de Pico de Frecuencia de las 10 mediciones de cada vocalización fue exactamente el mismo, y esto es una obviedad ya que la estandarización parte del pico de energía el cual pertenece a algún valor de frecuencia, por ende este valor de frecuencia con la mayor cantidad de energía va a ser constante para cada señal acústica (al menos utilizando siempre los mismos parámetros de configuración del espectrograma y del espectro). Sin embargo, los valores de frecuencia mínima, frecuencia máxima y duración 90%, presentan variaciones en las sucesivas mediciones realizadas para cada vocalización. Estas variaciones son productos de no tener en cuenta los decimales del pico de energía ni de la barra de marcación al delimitar la señal aproximadamente por -15 dB respecto al pico de energía. Sin embargo, los valores de desvío estándar y coeficiente de variación de las mediciones en las 10 vocalizaciones (Tabla 12) indican que estas variaciones son bajas.

Otros softwares utilizados en bioacústica son capaces de realizar mediciones de las señales a partir de estandarizaciones de forma automática (por ejemplo el Avisoft SAS-Lab Pro) en donde el investigadores previamente establece que umbral de energía desea usar y el programa automáticamente establece los límites de frecuencia mínima, frecuencia máxima y duración de la señal a partir de umbrales. El software Raven pro1.4 carece de esta función, sin embargo manualmente se puede lograr que las mediciones de las señales acústicas estén estandarizadas y con esto lograr una investigación más sólida, comparable y objetiva.

En esta tesis pretendimos usar una metodología objetiva para el análisis de las vocalizaciones del Tuco-Tuco de Anillaco. La vocalización de larga distancia (Capítulo 2) y su desarrollo ontogenético fueron cuantificadas utilizando medidas de tendencia central (frecuencia 5 %, frecuencia 95 %, duración 90 %). Las vocalizaciones de corta distancia (Capítulo 3) fueron cuantificadas utilizando mediciones de umbral con respecto a picos de energía. Los trabajos previos sobre vocalizaciones de tuco-tucos no fueron realizados con una metodología objetiva para el análisis de las señales. Nosotros consideramos que la objetiva cuantificación de las vocalizaciones es un pilar fundamental en los trabajos de bioacústica. El uso de una metodología objetiva para cuantificar las vocalizaciones, es fundamental poder comparar vocalizaciones de un individuo, vocalizaciones entre individuos o vocalizaciones entre especies.

Apéndice 2: Parámetros acústicos utilizados para la caracterización de la vocalización de larga distancia (Capítulo 2), el desarrollo de la vocalización de larga distancia (Capítulo 3) y la vocalización de corta distancia (Capítulo 4).

1. **Pico de frecuencia (Hz):** frecuencia a la que se produce el pico energía dentro de la selección.
2. **RIC (Rango-Inter-Cuartil) de ancho de banda (Hz):** la diferencia entre el 1er y 3er cuartil frecuencias.
3. **Ancho de banda 90% (Hz):** diferencia entre la frecuencia 5% (frecuencia que divide la selección en dos intervalos de frecuencia que contienen el 5% y 95% de la energía en la selección) y la frecuencia 95% (frecuencia que divide la selección en dos intervalos de frecuencia que contienen el 95% y el 5% de la energía en la selección).
4. **1er cuartil de frecuencia (Hz):** frecuencia que divide la selección en dos intervalos que contienen el 25% y 75% de la energía en la selección.
5. **3er cuartil de frecuencia (Hz):** frecuencia que divide la selección en dos intervalos que contienen el 75% y 25% de la energía en la selección.
6. **Frecuencia 5% (Hz):** frecuencia que divide la selección en dos intervalos de frecuencia que contienen el 5% y 95% de la energía en la selección.
7. **Frecuencia 95% (Hz):** frecuencia que divide la selección en dos intervalos de frecuencia que contienen el 95% y el 5% de la energía en la selección.
8. **Duración 90% (ms):** diferencia entre el tiempo 5% (tiempo que divide la selección en dos intervalos de tiempo conteniendo el 5% y el 95% de la energía dentro de la selección) y el tiempo 95% (tiempo que divide la selección en dos intervalos de tiempo conteniendo el 95% y el 5% de la energía dentro de la selección).
9. **Energía (dB):** total de energía contenida en la selección.

Apéndice 3. Muestra de audios (anexo CD)

Audio 1- Cuatro series de tríadas.

Audio 2- Cuatro series de díadas.

Audio 3- Cuatro series de tétradas.

Audio 4- Díez notas individuales.

Audio 5- Grabación completa de individuo 9.

Audio 6- Grabación completa de individuo 12.

Audio 7- Dos series anormales de tríadas.

Audio 8- Dos series anormales de díadas.

Audio 9- Dos series anormales de tétradas.

Audio 10- Dos monadas.

Audio 11- Cuatro series de tríadas del Macho 2. La primera serie registrada en la semana 1, la segunda serie fue registrada en la semana 4, la tercera serie fue registrada en la semana 8, la cuarta serie fue registrada en la semana 12.

Audio 12- Cuatro series de tríadas de la Hembra 1. La primera serie registrada en la semana 1, la segunda serie fue registrada en la semana 4, la tercera serie fue registrada en la semana 8, la cuarta serie fue registrada en la semana 12.

Audio 13- Notas pulsadas continuas y notas armónicas

Audio 14- Notas pulsadas discontinuas

Audio 15- Nota armónica A

Audio 16- Nota armónica B

Audio 17- Nota armónica C

Audio 18- Nota armónica D

Audio 19- Nota armónica E

Audio 20- Nota armónica F

Audio 21- Nota armónica G

Audio 22- Nota armónica H

Audio 23- Nota armónica I

Audio 24- Nota armónica J

Audio 25- Nota armónica K

Audio 26- Nota armónica L

Audio 27- Nota armónica M

Audio 28- Nota armónica N

Audio 29- Nota armónica O

Apéndice 4. Contribuciones de la tesis

PRESENTACIONES EN REUNIONES CIENTÍFICAS

- “Development of the Long-range vocalization in a *Ctenomys* species from La Rioja, Argentina”. **J. Amaya**, J. Areta, A. Farina, G. Basso. XXV IBAC-International Bioacoustics Congress, Murnau, Germany, 2015.
- “Cambios etarios en la vocalización territorial de un tuco-tuco de La Rioja, Argentina” **J. Amaya**, A. Farina, G. Basso. XXVII Jornadas argentinas de Mastozoología, Esquel, Chubut, Argentina, 2014.
- “Vocalización territorial de los *Ctenomys* de La Rioja: ¿características físicas pueden ser usada para identificar individuos?” **J. Amaya**, G. Francescoli. XXVI Jornadas argentinas de Mastozoología, Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina, 2013.
- Long-range vocalizations in a *Ctenomys* species from La Rioja (Argentina): basic characteristics”. **J. Amaya**, G. Francescoli, V. Valentinuzzi. XXIV IBAC-International Bioacoustics Congress, Pirenópolis, Goiás, Brazil, 2013.
- Bioacústica del Tuco-Tuco de Anillaco. **J. Amaya**. I Semana del sonido, La Plata, Argentina, 2013.
- “Estudio preliminar de la señal acústica de una especie de *Ctenomys* de la provincia de La Rioja, Argentina”. **J. Amaya**, G. Francescoli, V. Valentinuzzi. XXV Jornadas argentinas de Mastozoología y II Congreso Latinoamericano de Mastozoología, Capital Federal, Buenos Aires, Argentina, 2012.

ARTÍCULOS CIENTÍFICOS PUBLICADOS

- **Amaya J**, Areta J, Valentinuzzi V., Zufiaurre E. Long-range vocalizations of the Anillaco Tuco-Tuco (*Ctenomys* sp.): structure and behavioral context. *Peer J*.

Bibliografía

- Abraham E, del Valle H, Roig F, Torres L, Ares JO . 2009.** Overview of the geography of the Monte Desert biome (Argentina). *J. Arid Environ.* **73**: 144–153.
- Amaya JP, Areta JI, Valentinuzzi VS, Zufiaurre E. 2016.** Form and function of long-range vocalizations in a Neotropical fossorial rodent: the Anillaco Tuco-Tuco (*Ctenomys* sp.). *PeerJ* **4**: p.e2559.
- Amorim MCP, Vasconcelos RO. 2006.** Individuality in the mating call of (*Halobatrachus didactylus*). *Slovenska akademija znanosti in umetnosti*: 237–244.
- Barquez RM, Díaz MM, Ojeda RA. 2006.** Mamíferos de Argentina. *Sistemática y Distribución*. Editorial SAREM, Mendoza, Argentina.
- Bednářová R, Hrouzkova-Knotkova E, Burda H, Sedlačka F, Šumbera R. 2013.** Vocalisations of the gnat mole-rat (*Fukomys mechowii*), a subterranean rodent with the richest vocal repertoire. *Bioacoustics* **22(2)**:87–107.
- Begall S, Lange S, Schleich CE, Burda H. 2007.** Acoustics, audition and auditory system. In: Begall S, Burda H, Schleich CE, eds. *Subterranean Rodents, News from Underground*. Springer Berlin Heidelberg: 97-111).
- Borghi CE, Giannoni SM, Roig VG. 2002.** Eye reduction in subterranean mammals and eye protective behavior in *Ctenomys*. *Mastozoología Neotropical* **9(2)**:123–134.
- Bradbury JW, Vehrencamp SL. 2011.** Principles of animal communication. Second edition. Sinauer Associates, 697 pp.
- Brückmann G, Burda H. 1997.** Hearing in blind subterranean Zambian mole-rats (*Cryptomys* sp.): Collective behavioural audiogram in a highly social rodent. *Journal of Comparative Physiology A Sensory, Neural, and Behavioral Physiology* **181(1)**:83–88.
- Burda H, Šumbera R, Begall S. 2007.** Microclimate in burrows of subterranean rodents. In: Begall S, Burda H, Schleich CE, eds. *Subterranean Rodents, News from Underground*. Springer Berlin Heidelberg: 21-33
- Camín S. 2010.** Gestation, maternal behaviour, growth and development in the subterranean caviomorph rodent *Ctenomys mendocinus* (Rodentia, Hystricognathi, Ctenomyidae). *Animal Biology* **60(1)**: 79–95.
- Campbell P, Pasch B, Warren A, Phelps S. 2014.** Vocal ontogeny in neotropical singing mice (*Scotinomys*). *PLoS ONE* **9(12)**: 1–22.
- Credner S, Burda H, Ludescher F. 1997.** Acoustic communication underground: vocalization characteristics in subterranean social mole-rats (*Cryptomys* sp., Bathyergidae). *Journal of Comparative Physiology* **180(3)**:245–255.
- Dabelsteen T, McGregor PK. 1996.** Dynamic acoustic communication and interactive playback. *Ecology and evolution of acoustic communication in birds*: 398–408.

- Di Rienz JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW. 2016.** Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL
- Efremova KO, Volodin IA, Volodina EV, Frey R, Soldatova NV, Lapshina EN, Makarov IS, Gorbunov K S. 2011.** Sex and age effects on the structural features of nasal calls and body size in the goitred gazelle (*Gazella subgutturosa*, Artiodactyla, Bovidae) calves. *Zoologicheskii Zhurnal* **90**: 603–615.
- Ehret G, Kurt S. 2010.** Selective perception and recognition of vocal signals. In: Brudzynski SM, ed. *Handbook of Mammalian Vocalization*, 125–134.
- Fitch WT, Neubauer J, Herzog H. 2002.** Calls out of chaos: the adaptive significance of nonlinear phenomena in mammalian vocal production. *Animal Behaviour* **63(3)**: 407–418.
- Fracchia S, Krapovickas L, Aranda-Rickert A, Valentinuzzi V S. 2011.** Dispersal of arbuscular mycorrhizal fungi and dark septate endophytes by *Ctenomys* cf. *knighti* (Rodentia) in the northern Monte Desert of Argentina. *J. Arid Environ.* **75**: 1016–1023.
- Francescoli G. 1999.** A preliminary report on the acoustic communication in Uruguayan *Ctenomys* (Rodentia, Octodontidae): basic sounds types. *Bioacoustics* **10(2–3)**:203–218.
- Francescoli G. 2000.** Sensory capabilities and communication in subterranean rodents. In: Lacey EA, Patton JL, Cameron GN, eds. *Life Underground: The Biology of Subterranean Rodents*. Chicago: The University of Chicago Press, 111–144.
- Francescoli G. 2001.** Vocal signals from *Ctenomys pearsoni* pups. *Acta Theriol.* **46**: 327–330.
- Francescoli G. 2002.** Geographic variation in vocal signals of *Ctenomys pearsoni*. *Acta Theriologica* **47(1)**:35–44.
- Francescoli G, Quirici V. 2010.** Two different vocalization patterns in *Ctenomys* (Rodentia, Ctenomyidae) territorial signals. *Mastozoologia Neotropical* **17(1)**:141–145
- Francescoli G. 2011.** Tuco-tucos' vocalization output varies seasonally (*Ctenomys pearsoni*; Rodentia, Ctenomyidae): implications for reproductive signaling. *Acta Ethologica* **14(1)**:1–6.
- Fuller JL. 2014.** The vocal repertoire of adult male blue monkeys (*Cercopithecus mitis stuhlmanni*): a quantitative analysis of acoustic structure. *American journal of primatology* **76(3)**: 203–216.
- Grimsley JM, Monaghan JJ, Wenstrup JJ. 2011.** Development of social vocalizations in mice. *PLoS ONE* **6(3)**.
- Gros-Louis J. 2002.** Contexts and behavioral correlates of trill vocalizations in wild white-faced capuchin monkeys (*Cebus capucinus*). *American Journal of Primatology* **57(4)**: 189-202.

- Hammerschmidt K, Jürgens U, Freudenstein T. 2001.** Vocal Development in Squirrel Monkeys. *Behaviour* **138(9)**: 1179–1204.
- Hauser MD. 1989.** Ontogenetic Changes in the Comprehension and Production of Vervet Monkey (*Cercopithecus aethiops*) vocalizations. *Journal of Comparative Psychology* **103(2)**: 149–158.
- Heffner RS, Heffner HE. 1992.** Hearing and sound location in blind mole rat (*Spalax ehrenbergi*). *Hearing Research* **62**:206–216.
- Heffner RS, Heffner HE. 1993.** Degenerate hearing and sound localization in naked mole rats (*Heterocephalus glaber*), with an overview of central auditory structures. *The Journal of comparative neurology* **331(3)**:418–433.
- Heffner RS, Koay G, Heffner HE. 2001.** Audiograms of five species of rodents : implications for the evolution of hearing and the perception of pitch. *Hearing Research* **157**:138–152.
- Heth G, Frankenberg E, Nevo E. 1986.** Adaptive optimal sound for vocal communication in tunnels of a subterranean mammal (*Spalax ehrenbergi*). *Experientia* **42(11)**:1287–1289
- Heth G, Frankenberg E, Nevo E. 1988.** “Courtship” call of subterranean mole rats (*Spalax ehrenbergi*): Physical analysis. *Journal of Mammalogy* **69(1)**: 121–125.
- Hildebrand M.1985.** Digging in quadrupeds. In: Hildebrand M, Liem D, Wake K, eds. *Functional vertebrate morphology*. Cambridge, MA: Harvard University Press: 98–109.
- Holzmann I, Agostini I, Di Bitetti M. 2012.** Roaring behavior of two syntopic Howler species (*Alouatta caraya* and *A. guariba clamitans*): evidence supports the mate defense hypothesis. *Inter. J. Primat.* **33**: 338–355.
- Janik VM, Slater PJB. 1997.** Vocal learning in mammals. *Advances in the Study of Behaviour* **26**: 59–100.
- Kroodsma DE, Konishi M. 1991.** A suboscine bird (Eastern phoebe, *Sayornis phoebe*) develops normal song without auditory feedback. *Animal Behaviour* **42(3)**: 477–487.
- Kroodsma DE, Miller EH, Ouellet H. 1982.** Acoustic Communication in Birds: Song learning and its consequences, Academic Press.
- Lacey E A, Braude S H, Wieczorek J R. 1997.** Burrow sharing by colonial tuco-tucos (*Ctenomys sociabilis*). *Journal of Mammalogy*, 556-562.
- Lacey EA. 2000.** Spatial and social systems of subterranean rodents. In: Lacey EA, Patton JL, Cameron GN, eds. *Life Underground: The Biology of Subterranean Rodents*. Chicago: The University of Chicago Press, 257–296.
- Lange S, Burda H, Wegner RE, Dammann P, Begall S, Kawalika M. 2007.** Living in a “stethoscope”: burrow-acoustics promote auditory specializations in subterranean rodents. *Naturwissenschaften* **94(2)**:134–138

- Lessa EP, Cook JA. 1998.** The molecular phylogenetics of tuco-tucos (genus *Ctenomys*, Rodentia: Octodontidae) suggests, early burst of speciation. *Mol. Phyl. Evol.* **9**: 88–99.
- Littlejohn MJ. 2001.** Patterns of differentiation in temporal properties of acoustic signals of anurans. *Anuran communication*: 102–120.
- Marler P. 1967.** Animal Communication Signals we are beginning to understand how the structure of animal signals relates to the function they serve. *Science* **157**: 769–774.
- Marten K, Marler P. 1977.** Sound transmission and its significance for animal vocalization. *Behavioral ecology and sociobiology* **2(3)**: 271–290.
- Morton E. 1977.** On the Occurrence and Significance of Motivation-Structural Rules in Some Bird and Mammal Sounds. *The American Naturalist* **111(981)**: 855–869.
- Nevo E. 1979.** Adaptive convergence and divergence of subterranean mammals. *Annual Review of Ecology Systematic* **10(2)**:269–308.
- Peixoto MA, Guimarães CS, Lacerda JVA, Leal F, Rocha PC, Feio RN. 2016.** Vocal repertoire of *Scinax v-signatus* (Lutz 1968)(Anura, Hylidae) and comments on bioacoustical synapomorphies for *Scinax perpusillus* species group. *Acta Herpetologica* **11(1)**: 53-57
- Pepper JW, Braude SH, Lacey EA, Sherman PW. 1991.** Vocalizations of the Naked Mole-rat. In: Sherman PW, Jarvis JUM, Alexander RD, eds. *The biology of the Naked Mole-rat*. Princeton University Press. Princeton, 243–274.
- Quilliam TA. 1966.** The mole's sensory apparatus. *J Zool Lond* **149**:76–88.
- Riede T, Herzog H, Mehwald D, Seidner W, Trumler E, Böhme G, Tembrock G. 2000.** Nonlinear phenomena in the natural howling of a dog-wolf mix. *The Journal of the Acoustical Society of America* **108(4)**: 1435–1442.
- Reig OA, Busch C, Ortells MO, Contreras JR. 1990.** An overview of evolution, systematics, population biology, cytogenetics, molecular biology and speciation in *Ctenomys*. In: Nevo E, Reig OA, eds. *Evolution of Subterranean Mammals at the Organismal and Molecular Level*. New York: 71–96.
- Ryan M, Kime N. 2003.** Selection on Long-Distance Acoustic Signals. In *Acoustic Communication* : 225–274.
- Scherrer J. 1993.** Evening bat isolation calls provide evidence for heritable signatures. *Animal Behaviour* **46(5)**: 847–860.
- Schleich C, Busch C. 2002 a.** Acoustic signals of a solitary subterranean rodent *Ctenomys talarum* (Rodentia: Ctenomyidae): physical characteristics and behavioral correlates. *J. Ethol.* **20**: 123–131.
- Schleich CE, Busch C. 2002 b.** Juvenile vocalizations of *Ctenomys talarum* (Rodentia: Octodontidae). *Acta Theriologica* **47(1)**: 25-33.

- Schleich C, Veitl S, Knotková E, Begall S. 2007.** Acoustic Communication in Subterranean Rodents. In: Begall S, Burda H, Schleich CE, eds. *Subterranean Rodents, News from Underground*. Springer Berlin Heidelberg: 113–127.
- Schleich CE, Antenucci DC. 2009.** Sound transmission and burrow characteristics of the subterranean rodent *Ctenomys talarum* (Rodentia: Ctenomyidae). *Acta Theriologica*, **54(2)**:165–170.
- Schleich CE, Vielma A, Glösmann M, Palacios AG, Peichl L. 2010.** Retinal photoreceptors of two subterranean tuco-tuco species (Rodentia, *Ctenomys*): morphology, topography, and spectral sensitivity. *Journal of Comparative Neurology* **518(19)**: 4001–4015.
- Seyfarth RM, Cheney DL. 1986.** Vocal development in vervet monkeys. *Animal Behaviour* **34(6)**: 1640–1658.
- Sikes RS, Gannon WL. 2011.** The animal care and use committee of the American Society of Mammalogists. Guidelines of the American Society of Mammalogists for the use of wild mammals in research. *J. Mammal.* **92**: 235–253.
- Smith WJ. 1991.** Singing is based on two markedly different kinds of signaling. *Journal of Theoretical Biology* **152(2)**: 241–253.
- Suthers R, Narins P, Lin W, Schnitzler H, Denzinger A, Xu C, Feng A. 2006.** Voices of the dead: complex nonlinear vocal signals from the larynx of an ultrasonic frog. *The Journal of experimental biology* **209 (24)**: 4984–4993.
- Tachinardi P, Bicudo JEW, Oda GA, Valentinuzzi VS. 2014.** Rhythmic 24 h variation of core body temperature and locomotor activity in a subterranean rodent (*Ctenomys aff. knighti*) the tuco-tuco. *PloS one* **9(1)**: e85674.
- Tassino B, Estevan I, Garbero R P, Altesor P, & Lacey E A. 2011.** Space use by Río Negro tuco-tucos (*Ctenomys rionegrensis*): Excursions and spatial overlap. *Mammalian Biology-Zeitschrift für Säugetierkunde* **76(2)**: 143-147.
- Tomotani BM, Flores DEFL, Tachinardi P, Paliza JD, Oda GA, Valentinuzzi VS. 2012.** Field and laboratory studies provide insights into the meaning of day-time activity in a subterranean rodent (*Ctenomys aff. knighti*), the tuco-tuco. *PLoS ONE* **7(5)**:e37918
- Tyack PL. 2016.** Vocal Learning and Auditory-Vocal Feedback. In *Vertebrate Sound Production and Acoustic Communication*. Springer: 261–295.
- Tyson RB, Nowacek DP, Miller PJO. 2007.** Nonlinear phenomena in the vocalizations of North Atlantic right whales (*Eubalaena glacialis*) and killer whales (*Orcinus orca*). *The Journal of the Acoustical Society of America* **122(3)**: 1365.
- Valentinuzzi VS, Oda GA, Araújo JF, Ralph MR. 2009.** Circadian pattern of wheel-running activity of a South American subterranean rodent (*Ctenomys cf knightii*). *Chronobiology International* **26**: 14–2.

- Vassallo AI, Kittlein MJ, Busch C. 1994.** Owl predation on two sympatric species of tuco-tucos (Rodentia: Octodontidae). *Journal of Mammalogy* **75(3)**:725–732.
- Veitl S, Burda I. 2000.** Ecological detertviinahits of vocalisation parameters : the case of the coruro *Spalacopus ctanus* (Octodontidae), a fossorial social rodent, **11**:129–148.
- Vleck D. 1979.** The energy cost of burrowing by the pocket gopher *Thomomys bottae*. *Physiological Zoology* **52(2)**: 122–136.
- Vleck D. 1981.** Burrow structure and foraging costs in the fossorial rodent, *Thomomys bottae*. *Oecologia* **49(3)**: 391–396.
- Waser PM, Brown CH. 1986.** Habitat acoustics and primate communication. *American Journal of Primatology* **10(2)**: 135–154.
- Wilden I, Herzel H, Peters G, Tembrock G. 1998.** Subharmonics, Biphonation, and Deterministic Chaos in Mammal Vocalization. *Bioacoustics The International Journal of Animal Sound and its Recording* **9**: 171–196.
- Winter P, Handley P, Plogg D, Ditmar S. 1973.** Ontogeny of squirrel monkey calls under normal conditions and under acoustic isolation. *Behaviour* **47**: 230–239.
- Würdinger I. 1970.** Erzeugung, Ontogenie und Funktion der Lautäusserungen bei vier Gänsearten. *Zeitschrift für Tierpsychologie* **27(3)**: 257–302.
- Zenuto RR. 1999.** Sistema de apareamiento en *Ctenomys talarum* (Rodentia: Octodontidae). Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Mar del Plata.
- Zenuto RR, Fanjul MS. 2002.** Olfactory discrimination of individual scents in the subterranean rodent *Ctenomys talarum* (tuco-tuco). *Ethology* **108(7)**:629–641.
- Zollinger SA, Podos J, Nemeth E, Goller F, Brumm H. 2012.** On the relationship between, and measurement of, amplitude and frequency in birdsong. *Animal Behaviour* **84(4)**: e1–e9.

