A dark blue vertical bar is positioned on the left side of the page. From the bottom of this bar, several thin, light blue lines curve upwards and outwards, creating an abstract, organic shape that resembles a stylized plant or a splash of water.

“Estrategias de selección de sitios de  
reproducción y comportamiento reproductivo  
en diferentes especies de anfibios anuros  
asociados a la presencia de rutas próximas a  
la ciudad de Río Cuarto”

Michelli Mateo

Director: Dr. en Cs Biológicas Grenat Pablo

Codirector: Dr. en Cs Biológicas Martino Adolfo

Año 2019

# ÍNDICE

<u>AGRADECIMIENTOS</u>	I
<u>RESUMEN</u>	II
<u>INTRODUCCIÓN</u>	1
<i>Generalidades sobre anfibios anuros</i>	1
<i>Comunicación acústica en anuros</i>	2
<i>El efecto del ruido en la comunicación acústica</i>	4
<u>OBJETIVOS GENERALES Y ESPECÍFICOS</u>	8
<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	9
<i>Descripción del área de estudio</i>	9
<i>Descripción de los sitios de muestreo</i>	9
<i>Recolección de datos a campo</i>	17
<i>Procesamiento de datos y análisis estadístico</i>	18
<u>RESULTADOS</u>	21
<i>Variación diaria en los niveles de ruido</i>	21
<i>Relación entre las variables de ruido y las variables estructurales</i>	22
<i>Diferencias en niveles de ruido y riqueza específica entre rutas</i>	25
<i>Análisis de la variación de riqueza específica y la abundancia relativa entre sitios</i>	28
<i>Relación entre las características espectrales del ruido de tráfico vehicular y las vocalizaciones de las especies de anuros locales</i>	30
<u>DISCUSIÓN</u>	32
<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	39

## AGRADECIMIENTOS

*...Primero agradecer a la educación pública y gratuita que tuve en la Universidad Nacional de Río Cuarto durante estos años, y que me dio la oportunidad de formarme como biólogo y conocer a tanta gente.*

*...A todo el equipo de ecología de la uni que me dieron un lugar en su equipo de trabajo, bancándome todas las veces que tuve que ir por una u otra cosa, recibéndome siempre con buena onda, principalmente a Adolfo y Pablo.*

*...A Pablo que fue fundamental para que pudiera hacer este trabajo, enseñándome estadística, matemática, redacción, todo lo vinculado al sonido y a los anfibios anuros, el procesamiento de datos etc, etc, etc... por recibirme todos esos días que tuve que ir por que no me salía una u otra cosa y me lo explicaba por tercera vez, por ayudarme con la escritura, por llevarme en su auto a muestrear, y mil cosas más. ¡Gracias!*

*...A mi mamá y papá que me bancaron estos 8 años que me llevó la carrera, haciendo un esfuerzo enorme para mantenerme en Río cuarto con mi hermana para que cada uno termine su carrera y por todo el apoyo. A mis hermanos jere, clara, paz, vale, tomi, ines y mariano que de una u otra manera me ayudaron.*

*...A mi cuñado Lucho y su familia que me dieron un lugar en la casa de lucho durante los meses de muestreo para que no tuviese que viajar todos los días...mil gracias!*

*...A mis amigos de la vida y a los que fui ganando durante este trayecto que a pesar de ser bastante antisocial me bancaron y apoyaron en todo. A los de siempre Alexis, Lucas, Juani, Gerardo, Maxi, Juan Cruz, Andrés, Cachete, que si bien tomamos caminos distintos y los tengo medio abandonados solo basta un mensaje para juntarnos... A los biólogos y futuros biólogos que compartimos la misma locura...Aye, Inés, Franco, Hebe, Ingrid que transitamos juntos esta hermosa carrera y pasamos horas y horas de estudio, cursadas, mates, salidas, etc, etc...*

*A todos y cada uno... ¡GRACIAS!*

## RESUMEN

En las últimas décadas se ha evidenciado un fuerte interés y preocupación por la declinación de poblaciones de anfibios en todo el mundo, debido a que al menos el 43.2% de sus representantes están experimentando alguna forma de disminución poblacional. En este sentido, el tráfico vehicular, la infraestructura vial y la urbanización asociada están entre las principales causas que afectan de diferentes maneras a los anuros, siendo una de las más importantes la interferencia en la comunicación acústica de los individuos. El objetivo de este trabajo fue cuantificar el grado de contaminación acústica en dos rutas cercanas a la ciudad de Río Cuarto y evaluar el efecto de la perturbación ocasionada por tráfico vehicular sobre la elección de potenciales sitios de reproducción por parte de las especies de anfibios anuros locales. Los muestreos se realizaron en 13 lagunas, cinco pertenecientes a la Ruta Provincial N° 30 (RP 30), con tráfico moderado a bajo, y ocho a lo largo de la Ruta Nacional A-005 (RN A005), con niveles altos de tráfico. Para cada sitio se relevaron las siguientes variables: distancia a la fuente de ruido (m), pendiente (m), largo y ancho del cuerpo de agua (m), área (m<sup>2</sup>) y barrera vegetal (0=ausencia; 1=pasto y vegetación baja; 2=arbustos altos y árboles). Los datos de ruido (dB máximos y mínimos) fueron registrados in situ con un decibelímetro en tres franjas horarias (mañana, tarde y noche), con tres repeticiones en cada horario para cada sitio, replicado en tres días diferentes. Además, en cada visita se registró mediante grabación, dos minutos de ruido ambiente para posteriormente analizar variables espectrales y amplitudes RMS. Durante los meses de actividad de los anuros locales en las temporadas 2018 y 2019, se relevó la presencia de especies activas y su abundancia relativa asignándole un valor de 1 a 4 (1=< 5 individuos; 2= 5-10 individuos; 3=> 10 individuos; 4=> 20 individuos). Estos datos se complementaron con datos existentes en el grupo de trabajo desde el año 2016.

Los análisis estadísticos mostraron que las variables estructurales presentan correlación lineal negativa con las variables de ruido, debido a que las primeras interfieren con la propagación del ruido de tráfico vehicular hacia las lagunas. En el caso de la vegetación actúa como una barrera física semipermeable atenuante, mientras que la distancia y pendiente del sitio respecto a la carpeta asfáltica, reducen la propagación del ruido. Este hecho podría

explicar la elección de sitios abiertos, sin barreras acústicas evidentes, que fue observada en nuestro estudio.

En cuanto a la riqueza específica y abundancia, los sitios de la RP 30 presentaron en general más especies de anuros y coros más grandes, siendo el sitio “RP30LC” el de mayor riqueza (10 especies). Este resultado puede ser atribuido a que los sitios de esta ruta tienen menores valores para las variables ruido y mayores valores para las variables estructurales, es decir, un nivel de perturbación acústica de origen antrópico menor, mayor vegetación entre los sitios de reproducción y la fuente de ruido, las lagunas a mayor distancia y con mayor pendiente respecto de la ruta. Sumado a estas características, y contrario a lo que se observa en la RN A005, la RP 30 presenta ambientes rurales a ambos lados de la ruta que aportan un muy bajo nivel de perturbación acústica antrópica. Vale destacar que las frecuencias dominantes del canto en las especies encontradas se ubican entre los 300 (*Leptodactylus latrans*) y los 3500 Hz (*L. latinasus*), evidenciándose superposición espectral entre las vocalizaciones de las especies y el ruido vehicular. El ruido de tráfico vehicular en sitios cercanos a la ruta mostró un espectro evidente entre los 100 y 4000 Hz, con una amplitud de ruido similar a lo largo de todo el rango y una superposición mayor en la RN A005.

Este trabajo constituye una primera aproximación para analizar y cuantificar el efecto-ruta sobre la comunidad de anfibios anuros locales. Los resultados obtenidos muestran que a pesar de que la fuente de perturbación sea similar, la estructura del perfil de ruido y el grado en la que se propaga y es percibido el ruido en los sitios de reproducción de los anuros depende de un conjunto de variables propias de cada hábitat que deberían ser consideradas al realizar estudios que evalúen las respuestas de los individuos a este tipo de contaminación. En tanto, nuevos monitoreos y la inclusión de más sitios a lo largo de estas rutas, abarcando franjas mayores a cada lado de las mismas, serían necesarios para validar nuestros resultados y establecer zonas de efecto-ruta más precisas que permitan sugerir medidas de mitigación y manejo con el fin de minimizar el impacto de esta perturbación sobre los anfibios locales.

## INTRODUCCIÓN

### *Generalidades sobre anfibios anuros*

Los anfibios son un grupo de vertebrados tetrápodos ectotérmicos, que pertenecen al grupo Lissamphibia, compuesto actualmente por los clados Caudata (salamandras y tritones), Gymnophiona (cecilias) y Anura (ranas y sapos). Estos clados divergen en sus planes corporales, pero comparten características fisiológicas, como la dependencia de la respiración cutánea, un par de papilas sensoriales en el oído interno, dos canales de transmisión de sonido en el oído interno, células visuales especializadas en la retina, y la presencia de dos tipos de glándulas en la piel, entre otras (Vitt y Caldwell, 2014), que en conjunto los distinguen de otros vertebrados terrestres.

Entre los lisanfibios, los anuros constituyen el grupo con mayor número de representantes y más ampliamente distribuido. A nivel mundial han sido descritas 212 especies de cecilidos y 738 especies de caudados, mientras que los anuros están representados por 7092 especies (Frost, 2019). Los anfibios (del griego *amphi*: dos; *bio*: vida) muestran una característica única dentro de los vertebrados, ya que la mayoría de los miembros de este grupo presentan un ciclo de vida bifásico desarrollando una parte de su vida debajo del agua y la otra parte sobre la tierra (Duellman y Trueb, 1986). Por esta razón, han explotado con éxito la mayoría de los ambientes terrestres permaneciendo estrechamente ligados al agua o a microhábitats húmedos para la reproducción (Vitt y Caldwell, 2009). Durante la etapa larvaria, los anuros atraviesan un estado acuático de hábitos herbívoros, mientras que en estadios adultos presentan una dieta carnívora, alimentándose de insectos, arácnidos, gusanos y casi cualquier animal que se mueva o sea lo suficientemente pequeño como para ser engullido completamente. Si bien la mayoría de las especies de anuros tienen hábitos predominantemente terrestres, con estrecha asociación a cuerpos de agua, algunos representantes de este grupo son arborícolas y otros habitan en zonas desérticas, siendo activos sólo durante los pulsos de lluvias. En todos los casos la presencia de agua es crucial para completar su ciclo vital dado sus características biológicas en cada estadio de desarrollo, tales como la respiración cutánea en estadios adultos, respiración branquial en estadios de larvas, y la carencia de capas protectoras contra la desecación en estadio de huevo (Vitt y Caldwell, 2014).

La importancia ecológica del grupo radica en su papel en la cadena alimentaria, tanto como predador o como presa, ayudando a controlar poblaciones de insectos (u otros invertebrados), lo cual es importante para reducir la propagación de enfermedades y para el control de plagas que afectan a la agricultura. Además, la piel de los anfibios produce sustancias que pueden y son utilizadas en medicina para el tratamiento de múltiples enfermedades. Por otra parte, los anuros son considerados “bioindicadores”, ya que son las primeras especies en ser afectadas por situaciones ambientales estresantes; esto ocurre principalmente porque su piel es muy permeable al agua y al aire, permitiendo el ingreso de contaminantes, lo que los hace excelentes indicadores de la calidad ambiental (Rowe et al., 1992).

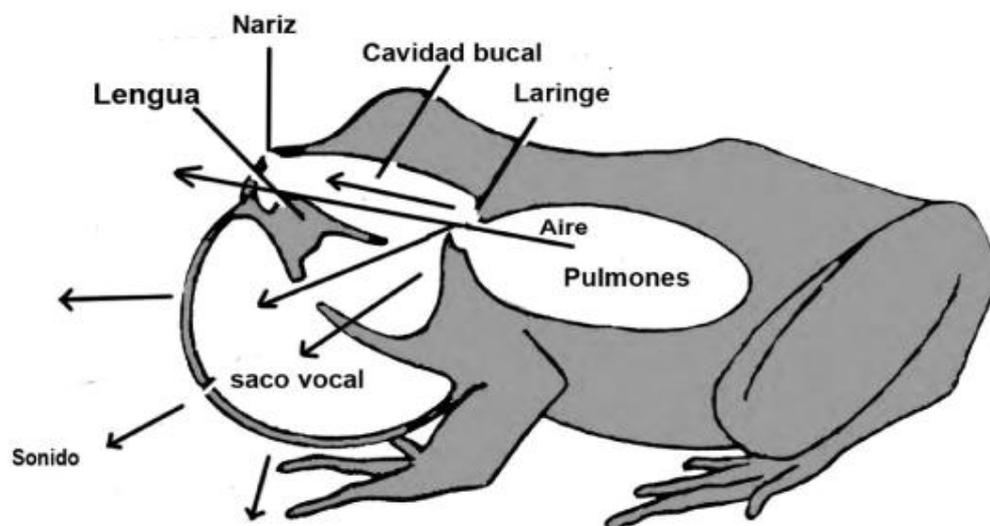
### *Comunicación acústica en anuros*

En los anuros, como en muchos otros animales, las vocalizaciones tienen una función fundamental en la atracción de pareja y en la advertencia territorial. Estos cantos son muy diversos y varían de especie a especie, siendo esto importante desde el punto de vista taxonómico, y aún dentro de una misma especie se pueden encontrar diferentes tipos de vocalizaciones según la situación en la que se encuentre el organismo (Gerhardt, 1994).

Las vocalizaciones implican un alto costo energético para el organismo, generalmente el macho, y un mayor riesgo de predación al atraer a potenciales depredadores (Bernal et al., 2004). El mecanismo básico para la producción de sonido en la mayoría de los anuros es relativamente similar. Durante el ciclo respiratorio el aire es empujado hacia los pulmones por presión positiva de los músculos de la cavidad bucal, luego el aire es forzado desde los pulmones por contracción de los músculos de la región torácica y movido a través de la laringe hacia la cavidad bucal. Posteriormente, el aire pasa a través de la laringe haciendo vibrar las cuerdas vocales, en asociación con los cartílagos, produciéndose el sonido (Figura 1; Duellman & Trueb, 1994). La acción de los músculos de la laringe genera una gran variedad de sonidos, desde notas sencillas hasta muy complejas (Wells, 2007). De manera general, la contracción de los músculos de la laringe permite la modulación activa de la amplitud del sonido, siendo la masa y tensión de las cuerdas vocales el mayor determinante de la frecuencia dominante del canto en los anuros, por lo cual es posible encontrar una relación entre el tamaño del cuerpo y la masa de las

cuerdas vocales (Wells, 2007), por lo que machos de mayor tamaño cantan con una frecuencia dominante más grave (Bernal et al., 2004).

Con respecto a la recepción del sonido, la mayoría de los anuros presentan un par de membranas timpánicas a ambos lados de la cabeza, justo atrás de los ojos, a través de las cuales las ondas sonoras son detectadas y pasan al oído interno (Duellman & Trueb, 1994).



**Figura 1.** Representación esquemática de un anuro donde se muestran las estructuras involucradas en la vocalización. Fuente: Duellman & Trueb (1994).

Como se mencionó anteriormente estos animales pueden generar distintos sonidos según la circunstancia que enfrenten, y en general se reconocen los siguientes tipos de vocalizaciones (Duellman & Trueb, 1994; Narins et al., 2007; Wells, 2007):

1. *Canto de liberación*: Este tipo de canto es realizado cuando un individuo no receptivo es amplexado por un macho, suele ser poco intenso y acompañado por una vibración corporal, aunque en algunos casos sólo se presenta la vibración corporal.

2. *Canto de agresividad*: Este canto es usado durante las peleas entre machos, aunque algunos clados de anuros carecen de este tipo de vocalización. Este canto se puede encontrar en algunos machos que defienden sus territorios de otros machos y por lo general tienen vocalizaciones agresivas distintivas.

3. *Canto de angustia*: Este tipo de canto es emitido al ser atacados por un presunto depredador. Posiblemente sirve para advertir a otros individuos del peligro o para intimidar al depredador y escapar.

4. *Canto de advertencia*: Este tipo de vocalización suele ser el más conocido, ya que es en el que se han concentrado la mayoría de los estudios. Este tipo de canto es usado para atraer parejas de la misma especie, además de repeler la presencia de competidores dentro del territorio. En algunas especies puede subdividirse en tres diferentes tipos de canto: canto de cortejo, el cual es típico de una especie y es un mecanismo importante de aislamiento pre-copula; el canto territorial, que se observa en especies y poblaciones con épocas de reproducción prolongadas; y el canto de encuentro entre macho y hembra.

#### *El efecto del ruido en la comunicación acústica*

A pesar de ser un grupo muy diverso y ampliamente distribuido, en las últimas décadas se ha evidenciado un fuerte interés y preocupación por la declinación de poblaciones de anfibios en todo el mundo (ej.: Barinaga, 1990; Wyman, 1990; Blaustein et al., 1994; Marsh y Trenham, 2001; Stuart et al., 2004; Vitt y Caldwell, 2014). Al menos 2.468 especies de anfibios (43.2%) están experimentando alguna forma de disminución poblacional, mientras que solo 28 (0.5%) están aumentando y 1552 (27.2%) son estables. Se cree que estos valores están subestimados dado a que 1661 (29.1%) especies tienen una tendencia desconocida (Stuart et al., 2004). En Argentina, de acuerdo con la última categorización, habitan 175 especies de anuros nativos, de los cuales 51 enfrentan algún grado de riesgo para su conservación (8 especies en peligro, 11 amenazadas y 32 vulnerables). Las restantes especies son clasificadas como no amenazadas (103 taxones) o insuficientemente conocidas (21 taxones) (Vaira et al., 2012).

Las principales amenazas que causan esta problemática a nivel mundial han sido reseñadas y analizadas en un contexto general y regional por Lavilla (2001) y Lavilla y Heatwole (2010), y agrupadas en siete categorías principales: (1) la fragmentación y/o pérdida irreversible del hábitat, (2) la alteración del hábitat por contaminación química y biológica, (3) la introducción de especies, (4) la aparición de enfermedades, (5) el incremento en la radiación ultravioleta, (6) los cambios en el clima global y (7) la explotación comercial de especies. Todo esto se agrava dado que son un grupo de animales

que presentan una gran sensibilidad por los cambios que se producen en su hábitat, debido a sus características ecológicas, comportamentales, fisiológicas y genéticas, que los hacen depender de ambientes acuáticos como así también del terrestre, afectándolos de manera directa o indirecta (Botero & Rodríguez, CEPAL., 2015). Como resultado de ello, los biólogos de conservación han concentrado su atención en los posibles efectos negativos de las actividades humanas sobre los anfibios, tales como, la modificación y destrucción del hábitat, el cambio climático y las consecuencias ocasionadas por diferentes tipos de perturbaciones (ej.: Wyman, 1990; Pechmann *et al.*, 1991; Fahrig *et al.*, 1995; Laurance, 1996; Vos y Chardon, 1998; Alexander y Eischeid, 2001; Hels y Buchwald, 2001; Blaustein y Kiesecker, 2002; Pounds *et al.*, 2006). En estos estudios, resulta evidente que en las últimas décadas las actividades antrópicas han modificado drásticamente el hábitat de estos animales, encontrándose principalmente afectadas la reproducción y la comunicación entre individuos copecíficos y limitando su distribución y abundancia a charcas temporarias o ambientes distantes a asentamientos urbanos.

Entre los espacios que pueden brindar las condiciones necesarias para la reproducción de los anfibios anuros se encuentran charcas efímeras y temporarias de tamaño y características variables, formadas en las cunetas de las rutas. En este sentido, el tráfico vehicular, la infraestructura vial y la urbanización asociada afectan de diferentes maneras a los anuros. Por ejemplo, por las muertes ocasionadas de manera directa, los anfibios comúnmente contribuyen con más de dos tercios de todas las muertes en vertebrados en las rutas, principalmente debido a sus limitadas respuestas de comportamiento y en muchos casos a la necesidad de migrar para la reproducción (Trevor & Beebee, 2012). Además, estas construcciones limitan la dispersión de los individuos, por la pérdida de hábitat que se produce al construirlas y por la contaminación acústica que genera el tránsito vehicular constante y la urbanización aledaña a estos sitios (Eigenbrod *et al.*, 2009). Sin embargo, el problema más generalizado son las consecuencias genéticas de la fragmentación del hábitat ya que el mantenimiento de altos niveles de diversidad genética es uno de varios factores claves que reducen el riesgo de extinción, y esto requiere poblaciones grandes con suficiente conectividad para facilitar la migración entre ellos (Trevor & Beebee, 2012). Hay que tener en cuenta que el área ocupada por las rutas está aumentando exponencialmente. Por ejemplo, en países altamente desarrollados como Estados Unidos y los Países Bajos, actualmente ocupan más de un quinto de la superficie

terrestre (Forman & Deblinger, 2000). En el caso de Argentina supera los 220500 km de recorrido y concretamente en Córdoba 26000 km (Proyecto Córdoba 2025).

Uno de los aspectos más relevantes a estudiar, y sobre el cual se cuenta con menos información, es el vinculado a la contaminación acústica, dado a que el ruido antropogénico es cada vez más dominante tanto en áreas urbanas como naturales. Por esto, el ruido ambiental (sensación auditiva inarticulada generalmente desagradable, RAE), no debería tratarse como "solo ruido" en el contexto de la ecología y la evolución de las señales animales (Slabbekoorn, 2001). Esto, principalmente, debido a que los machos de las diferentes especies, incluidos los anuros, generan vocalizaciones que pueden ser usadas para atraer a las hembras y reproducirse, para advertir a otros machos o a modo defensivo, elevando la probabilidad de que este tipo de perturbación afecte de diversas maneras al comportamiento de los individuos (Andrews & Jochimsen, 2007).

De acuerdo con Dowling *et al.* (2011), las vocalizaciones deben estar específicamente adaptadas a la estructura y a las características acústicas del entorno local de un organismo. De esta manera, si los animales en un área en particular no pueden comunicarse debido a la interferencia acústica ambiental, como la presencia de objetos, vegetación o ruido, la calidad del hábitat en esa área se reduce efectivamente, lo que puede resultar en la disminución de la densidad y distribución de las especies (Sun y Narins, 2005). Este hecho ocurre debido a que el ruido ambiental enmascara la señal acústica y, entonces, la distancia máxima sobre la cual la señal puede ser detectada o discriminada por un receptor se reduce, disminuyendo la distancia de comunicación o el espacio activo de la señal (Nemeth & Brumm, 2010). Hay que tener en cuenta que esta interferencia en las proximidades de la ruta, "la zona de efecto vial", ocupa más superficie que la ruta misma y sus banquetas, extendiéndose, en promedio 600m y en algunos casos hasta 1km (Forman & Deblinger, 2000). Sin embargo, es relativamente común encontrar especies utilizando sitios reproductivos asociados a las rutas y otras vías de comunicación. Este hecho podría ser explicado por la capacidad de los anuros, como otros grupos animales, de utilizar diferentes estrategias para hacer frente a condiciones acústicamente desfavorables. En este sentido, la hipótesis de adaptación acústica establece que el entorno en el que tiene lugar la comunicación acústica debe favorecer las características de vocalización que minimicen la atenuación y la degradación de la señal con la distancia (Brown y Handford, 2000). Una modificación observada en estos casos es la variación de la frecuencia del canto. Sin

embargo, los cambios de frecuencia en las vocalizaciones dentro de ambientes urbanos no son muy efectivos para mitigar el enmascaramiento del ruido del tráfico. En muchos casos, el aumento del tono de canto puede no ser una adaptación para reducir el enmascaramiento de la señal sino un efecto secundario fisiológico de cantar a altas amplitudes (Nemeth & Brumm, 2010). Esto puede obedecer al denominado *efecto Lombard* con el cual anfibios, como muchos otros animales, aumentan la amplitud de sus vocalizaciones en respuesta a un aumento en el ruido de fondo (Nemeth & Brumm, 2010). Por otra parte, algunas estrategias de reducción del efecto-ruta podrían estar basadas en la elección de los sitios de reproducción, relacionado a la distancia a las fuentes de ruido, la presencia de barreras atenuando la perturbación sonora y la utilización diferencial de los microhábitats de canto, entre otras (Eigenbrod et al., 2009).

Es importante saber que el ruido producido por tránsito vehicular no solo afecta a la fauna, sino también a la población humana próxima. Shukla et al, 2012, caracterizaron el ruido vehicular en un típico cruce en India y los datos analizados indicaron la existencia de ruidos de dos frecuencias dominantes, 63 Hz en la frecuencia baja y 1 kHz en los dominios de alta frecuencia. Estas frecuencias son peligrosas para la salud, lo que puede ocasionar problemas de audición, hipertensión, presión arterial alta, alteraciones en el habla, molestia, etc.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto, en el presente trabajo se desea ampliar el conocimiento acerca del potencial efecto de la presencia de rutas en distintas especies de anuros locales, estudiando las características de los sitios asociados a rutas con diferente nivel de perturbación acústica que efectivamente son elegidos por las diferentes especies para la reproducción.

## OBJETIVO GENERAL

Cuantificar el grado de perturbación en diferentes rutas y evaluar el efecto de contaminación acústica ocasionada por tráfico vehicular sobre la elección de potenciales sitios de reproducción por parte de especies de anfibios anuros.

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Reconocer y cuantificar potenciales sitios reproductivos para especies de anuros asociados a rutas con diferentes grados de tráfico vehicular.
- ✓ Caracterizar cada sitio mediante variables estructurales (morfología de las lagunas, distancia a fuentes de ruido, pendiente, presencia de barreras acústicas).
- ✓ Cuantificar el grado de perturbación acústica afectando cada sitio potencial de reproducción.
- ✓ Determinar la riqueza específica de anuros y la abundancia relativa por especie en sitios de reproducción asociados a rutas.
- ✓ Evaluar el alcance del efecto-ruta sobre la riqueza y actividad reproductiva de los anuros en relación a la distancia y características de los sitios reproductivos seleccionados por las especies.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Descripción del área de estudio*

El área de estudio se encuentra situada en el área periurbana de la ciudad de Río Cuarto ubicada al suroeste de la provincia de Córdoba, Argentina (Latitud: 33°7'50.41" S - Longitud: 64°20'59.71" O). Río Cuarto es la ciudad cabecera del departamento homónimo, y se encuentra situada en el oeste de la Pampa Húmeda, en una penillanura al este de la Sierra de Comechingones, a orillas del río del cual tomó el nombre, (el Cuarto) conocido también como Chocancharava (Figura 2) ([www.riocuarto.gov.ar](http://www.riocuarto.gov.ar)).

El clima de la región es templado, con estaciones bien definidas y una temperatura media que oscila entre los 9.5°C y las 24°C. El verano se caracteriza por ser caluroso con noches templadas y el invierno presenta días templados a frescos con noches muy frías. En cuanto a las precipitaciones, éstas oscilan entre 700 y 900 milímetros anuales concentradas principalmente en primavera y verano ([www.riocuarto.gov.ar](http://www.riocuarto.gov.ar)).

La ciudad, con un tamaño aproximado de 64.25 km<sup>2</sup> y 157010 habitantes (censo 2010), es la segunda ciudad más grande de la provincia, después de la capital, de la que dista 216 km. Es el centro comercial y de servicios de una región principalmente agrícola-ganadera. Su economía se basa en la concentración, comercialización e industrialización de productos agropecuarios, y la presencia de industrias alimentarias, agromecánicas, frigoríficos y lácteos ([www.riocuarto.gov.ar](http://www.riocuarto.gov.ar)). Además, la ciudad tiene una posición estratégica y por lo tanto presenta importantes vías de comunicación que la conectan con el resto de la provincia y del país, entre las que se destacan hacia el norte, la Ruta Nacional N° 36; la circunvalación de la ciudad, RN A005; hacia el este las RN 158 y RN 8; hacia el sur la RN 35 y hacia el oeste la Ruta Provincial N° 30.

### *Descripción de los sitios de muestreo*

Los muestreos se realizaron en 13 sitios, cinco de los cuales se encuentran en la Ruta Provincial N° 30 (RP 30) y los restantes ocho a lo largo de la Ruta Nacional A005 (RN

A005). Estos sitios consisten en lagunas efímeras de poca profundidad originadas por el escurrimiento del agua de lluvia, por lo que solo son visibles en los meses estivales, en las cuales se reproducen los anfibios. En general, estas lagunas tienen forma oval en la RP 30, mientras que las de la RN A005 son estrechas y alargadas. En cuanto a la barrera vegetal, presentan especies vegetales herbáceas y, en algunos casos, árboles de mediano porte (Tabla 1).

La RN A005 es un camino asfaltado de 11 km con dos carriles por mano, que vincula las RN 8 y 36. La RP 30 tiene un recorrido aproximado de 65 kilómetros con orientación sudoeste desde su inicio en Río Cuarto (33°06'35" S - 64°22'59" O) hasta su finalización en Achiras (33°09'37" S - 65°03'41" O), dentro de la provincia de Córdoba.



**Figura 2.** Imagen satelital donde se muestra la ubicación de los sitios de muestreo en el área periurbana de la ciudad de Río Cuarto (Imagen extraída de Google Earth).

**Tabla 1.** Resumen de las características de los sitios de muestreo. Los valores 0, 1 y 2 en la columna de barrera vegetal representan poca barrera vegetal, pastizal y árboles, respectivamente.

sitio	sitio N	Ruta	Distancia a ruta (m)	Área (m <sup>2</sup> )	Pendiente con la ruta (m)	Barrera Vegetal
A005C	1	A005	10	214	0.5	0
A005PM	2	A005	12	2468	1	1
A005RG	3	A005	20	1341	1	2
A005P	4	A005	15	480	0.5	0
A005EX	5	A005	15	532	1	0
A005ET	6	A005	15	739	1.5	0
A005RC	7	A005	8	897	0.5	0
A005RN8	8	A005	15	231	1.5	0
RP30E	9	30	20	2100	2.5	1
RP30SE	10	30	30	1091	1	1
RP30CA	11	30	5	1220	3	2
RP30CE	12	30	40	6030	2	1
RP30LC	13	30	40	29309	1	1

A continuación, se hace una breve referencia de cada sitio de muestreo:

- “A005C” (-33.090005° S / -64.350250° O): Se encuentra ubicado en la margen norte del río Cuarto (Chocancharava), aproximadamente a 1 km del puente Islas Malvinas. El cuerpo de agua se encuentra aproximadamente 10 m de la ruta, la pendiente es suave y presenta muy poca vegetación dado que las banquetas son desmalezadas periódicamente. (Figura 3).



**Figura 3.** Vista del sitio A005C donde puede observarse el cuerpo de agua y la RN A005 a la derecha.

- “A005PM” ( $-33.108630^{\circ}$  S /  $-64.379001^{\circ}$  O): Se encuentra a unos 300 m al oeste del lago Villa Dalcar. Presenta en las orillas pastizales de mediano porte. Esta laguna presenta una forma alargada y se encuentra a 12 m de la ruta (Figura 4).



**Figura 4.** Vista del sitio A005PM, donde se muestra la laguna y la forma angosta y alargada característica de las lagunas de la RN A005.

- “A005RG” ( $-33.117150^{\circ}$  S /  $-64.381557^{\circ}$  O): Esta laguna se ubica en cercanías de la rotonda Golf, la cual actúa como nexo entre la RP 30, la RN A005 y el ingreso a la ciudad de Río Cuarto. Presenta como vegetación algunos árboles y pastizal y se encuentra aproximadamente a 20 m de la carpeta asfáltica (Figura 5).



**Figura 5.** fotografía del sitio A005RG, a metros de la Rotonda de Barrio Golf.

- “A005P” (-33.129312° S / -64.382503° O): Este cuerpo de agua se encuentra próximo a la avenida Presidente Perón Oeste y se distancia unos 15 m de la ruta. La vegetación que presenta es herbácea (Figura 6).



**Figura 6.** Imagen del sitio A005P, se muestra la laguna y el tipo de vegetación predominante.

- “A005EX” (-33.135409° S / -64.383506° O): Este sitio está ubicado a unos 500 m del hipódromo de la ciudad. Su vegetación es herbácea y escasa, y se ubica a 15 m de la carpeta asfáltica (Figura 7).



**Figura 7.** Vista de laguna correspondiente al sitio A005EX. Se observa la forma característica de las lagunas presentes a orillas de esta ruta.

- “A005RC” (-33.137417° S / -64.383328 O): Este sitio está representado por una laguna lindante a la rotonda Castelli, uno de los principales ingresos a la ciudad. Se

ubica a 8 m de la ruta y presenta poca vegetación, principalmente herbácea (Figura 8).



**Figura 8.** Laguna del sitio A005RC en cercanías de la Rotonda Castelli, con la ruta A-005 de fondo.

- “A005T” ( $-33.142572^{\circ}$  S /  $-64.382681^{\circ}$  O): Este sitio se encuentra ubicado al oeste del barrio Castelli I, a unos 15 m de la ruta. Presenta poca vegetación principalmente herbácea (Figura 9).



**Figura 9.** Laguna del sitio A005T a orillas de la RN A005. Se observa el tipo de vegetación predominantemente herbácea.

- “A005-RN 8” ( $-33.162845^{\circ}$  S /  $-64.379149^{\circ}$  O): Este sitio se encuentra poco antes del cruce entre las RN A005 y RN 8, y está ubicado aproximadamente a 15 m de la

ruta. A diferencia del resto de las lagunas de esta ruta, este cuerpo de agua no tiene una forma alargada y angosta sino más bien circular (Figura 10).



**Figura 10.** Sitio A005-RN8 en el cruce entre la ruta A-005 y la RN 8. Se observa que la laguna es más ancha que las comúnmente encontradas a orillas de esta ruta.

- “RP30E” (-33.107956° S / -64.385842° O): Esta laguna está totalmente cubierta por una densa vegetación herbácea, predominando el sorgo de Alepo (*Sorghum halepense* (L.) Pers.). Se encuentra a 20 m de la ruta y tiene una marcada pendiente respecto a la carpeta asfáltica (Figura 11).



**Figura 11.** Sitio RP30E primer laguna de la ruta 30, se puede observar que la vegetación herbácea cubre la laguna y la pendiente pronunciada.

- “RP30SE” ( $-33^{\circ}.62665^{\circ}$  S /  $64^{\circ}.233547^{\circ}$  O): Este sitio se encuentra representado por una laguna angosta y alargada ubicada a 30 m de la ruta y cubierta por una densa vegetación herbácea (Figura 12).



**Figura 12.** Sitio RP30SE en la imagen apenas se puede ver parte de la laguna dada la densa vegetación herbácea.

- “RP30CA” ( $-33.104406^{\circ}$  S /  $-64.423562^{\circ}$  O): Este sitio presenta una alta densidad de árboles de gran porte junto con especies herbáceas. Se encuentra a 5 m de la ruta y presenta una abrupta pendiente desde la ruta a la laguna, aproximadamente de 3 metros (Figura 13).



**Figura 13.** Sitio RP30CA, en la imagen se recalca la pendiente de la laguna con la ruta, y además se puede ver que la vegetación cubre completamente el cuerpo de agua.

- “RP30CE” (-33.096860° S / -64.431203° O): Este sitio se encuentra ubicado a 40 metros de la ruta. Presenta vegetación escasa y baja, y su pendiente con respecto a la carpeta asfáltica superando los 2 m (Figura 14).



**Figura 14.** Sitio RP30CE se puede ver que el cuerpo de agua esta descubierta y al fondo a la izquierda un camión que circula por la ruta.

- “RP30LC” (-33.080504° S / -64.470546° O): Es la última laguna del tramo de la RP 30 ubicándose a 40 metros de la carpeta asfáltica. Es el cuerpo de agua de mayor tamaño y presenta una franja de pastizales donde predomina el sorgo de Alepo (*Sorghum halepense* (L.) Pers.) (Figura 15).



**Figura 15.** Sitio RP30LC en la imagen se distingue el cuerpo de agua y la franja de pastizal antes de la ruta.

### *Recolección de datos a campo*

La caracterización de los sitios y las mediciones de ruido se llevaron a cabo entre los meses de marzo y Diciembre de 2018. Para cada sitio se relevaron las siguientes variables: distancia a la fuente de ruido (m), pendiente (m), largo y ancho del cuerpo de agua (m), área (m<sup>2</sup>) y presencia de potenciales barreras acústicas (0=ausencia; 1=pasto y vegetación baja; 2=arbustos altos y árboles). Estos datos fueron colectados a campo o mediante el uso de imágenes y herramientas de medición de Google Earth Pro™.

Los datos de ruido fueron registrados durante tres franjas horarias, mañana (de 8 a 13hs), tarde (de 14 a 19hs) y noche (de 20 a 2hs), con tres repeticiones por sitio en cada horario. Desde el borde del cuerpo de agua se registraron dos minutos de ruido ambiente en cada sitio por cada muestreo, utilizando un grabador Olympus Voice Recorder Vc-3100PC. Además, se registraron los decibeles máximos y mínimos de ruido mediante el uso de un decibelímetro CEM DT-805. Para ello, en cada visita a los sitios se hicieron tres mediciones de un minuto, separadas por un minuto sin registro. Estas mediciones se realizaron a 20 cm y a un metro del suelo para determinar si existen diferencias en la percepción del ruido a diferentes niveles.

Durante los meses de actividad de los anfibios anuros de la región de las temporadas 2018 y 2019 se relevaron para cada sitio la presencia de especies activas y su abundancia relativa asignándole un valor de 1 a 4 de acuerdo a los siguientes rangos (1=menos de 5 individuos; 2= entre 5 y 10 individuos; 3=más de 10 individuos; 4=más de 20 individuos). Además, los datos de riqueza fueron complementados con datos existentes en el grupo de trabajo desde el año 2016 hasta el presente.

### *Procesamiento de datos y análisis estadístico*

Los audios registrados se digitalizaron y analizaron utilizando el programa Adobe Audition CS6. Para cada registro acústico se determinó el tiempo de ruido por minuto (expresado en segundos y en porcentaje), la frecuencia dominante (Hz) y amplitud RMS (*Root Mean Square*) media, mínima y máxima (dB). La medición RMS resulta una

forma más precisa de determinar la intensidad percibida de un registro debido a que mide la cantidad de energía de una onda y promedia los picos instantáneos en la intensidad total, siendo un nivel más sostenido en comparación con los cambios rápidos manifestados solo por los picos de amplitud.

En primera instancia se realizaron test t-pareado para analizar si existen diferencias entre los decibeles máximos y mínimos a un metro y a nivel del suelo (Tabla 2) para tomar una decisión respecto a qué valor utilizar en análisis subsiguientes. Debido a que los sitios 8 y 10 mostraron diferencias significativas para decibeles máximos, se decidió trabajar con mediciones de decibeles a nivel de suelo, los cuales pueden resultar más descriptivos teniendo en cuenta los sitios individuales de canto utilizados por los organismos objetos de estudio.

**Tabla 2.** Resultados de los test t pareados entre mediciones de ruido (máximo y mínimo; dB) a nivel de suelo y metro por sitio (nivel de significancia = 0,05).

Sitio N	Obs (1)	Obs (2)	Media (1)	Media (2)	T	p-valor
A005C	dB a 1 m (min)	dB suelo (min)	63.6	61.90	0.27	0.81
A005C	dB a 1 m (max)	dB suelo (max)	70.73	70.77	-0.02	0.99
A005PM	dB a 1 m (min)	dB suelo (min)	60.4	59.80	0.10	0.93
A005PM	dB a 1 m (max)	dB suelo (max)	66.2	63.67	3.01	0.09
A005RG	dB a 1 m (min)	dB suelo (min)	61.17	57.90	1.51	0.27
A005RG	dB a 1 m (max)	dB suelo (max)	65.37	65.73	-0.09	0.94
A005P	dB a 1 m (min)	dB suelo (min)	64.77	62.00	0.42	0.71
A005P	dB a 1 m (max)	dB suelo (max)	73.73	67.93	3.54	0.07
A005EX	dB a 1 m (min)	dB suelo (min)	63.27	53.13	2.86	0.10
A005EX	dB a 1 m (max)	dB suelo (max)	69.20	64.20	2.99	0.10
A005ET	dB a 1 m (min)	dB suelo (min)	64.77	65.50	-0.17	0.88
A005ET	dB a 1 m (max)	dB suelo (max)	74.33	71.40	0.80	0.51
A005RC	dB a 1 m (min)	dB suelo (min)	65.80	54.67	1.74	0.22
A005RC	dB a 1 m (max)	dB suelo (max)	70.63	62.23	1.31	0.32
A005RN8	dB a 1 m (min)	dB suelo (min)	61.20	59.60	0.67	0.57
A005RN8	dB a 1 m (max)	dB suelo (max)	70.83	67.23	9.98	<b>0.01</b>
RP30E	dB a 1 m (min)	dB suelo (min)	56.80	57.67	-0.36	0.75
RP30E	dB a 1 m (max)	dB suelo (max)	61.90	62.93	-0.36	0.75
RP30SE	dB a 1 m (min)	dB suelo (min)	47.37	47.20	0.06	0.96
RP30SE	dB a 1 m (max)	dB suelo (max)	57.63	49.97	5.21	<b>0.03</b>
RP30CA	dB a 1 m (min)	dB suelo (min)	46.13	45.70	0.51	0.66
RP30CA	dB a 1 m (max)	dB suelo (max)	71.23	58.17	2.02	0.18
RP30CE	dB a 1 m (min)	dB suelo (min)	46.00	40.80	1.59	0.25
RP30CE	dB a 1 m (max)	dB suelo (max)	54.40	50.53	0.64	0.59
RP30LC	dB a 1 m (min)	dB suelo (min)	52.43	45.13	1.36	0.31
RP30LC	dB a 1 m (max)	dB suelo (max)	57.03	56.33	0.17	0.88

Los datos fueron sometidos a pruebas de normalidad Shapiro-Wilk, y se utilizaron para las comparaciones test paramétricos (ANOVA) para datos normales y no paramétricos (Kruskal-Wallis) cuando los datos no mostraron una distribución normal. Se analizaron diferencias entre las rutas a lo largo del día (mañana-tarde-noche).

Por otro lado, con el objetivo de determinar dependencia entre las variables, se realizaron regresiones simples entre cada variable de ruido y las variables estructurales (barrera vegetal, distancia de la laguna a la ruta y pendiente). Para estos análisis se utilizaron solo las variables relacionadas con la percepción de ruido (Amplitud RMS mínima, media y máxima; y dB suelo mínimos y máximos), las cuales pueden estar afectadas por los parámetros estructurales analizados.

Las diferencias entre rutas (RN A005 y RP 30) se analizaron mediante el uso de modelos lineales generalizados (MLG), considerando las variables de ruido y la riqueza como variables dependientes, la ruta como factor fijo y las variables estructurales y los sitios dentro de cada ruta como factores aleatorios. Se utilizó el criterio de información de Akaike (AIC) para determinar el modelo que mejor se ajusta a los datos.

Por último, se realizó una aproximación multivariada mediante Análisis de Componentes Principales, basado en las variables de ruido, riqueza y variables estructurales para analizar la relación entre los diferentes sitios independientemente de la ruta a la que pertenecían. Todos los análisis estadísticos de los datos fueron llevados a cabo con el programa Infostat (Di Rienzo et al., 2011).

## RESULTADOS

### *Variación diaria en los niveles de ruido*

Las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk, determinaron que solo la variable decibeles a nivel de suelo mínimo y máximo durante la noche resultaron normales (Tabla 3). Por ello, se realizaron test no paramétricos de Kruskal-Wallis (Tabla 4) para comparar la variación diaria para cada ruta en los diferentes parámetros.

**Tabla 3.** Resultados de la prueba de normalidad Shapiro-Wilk sobre las diferentes variables para cada momento del día. Se resaltan los valores de significancia de las variables que mostraron distribución normal.

M-T-N	Variable	Media	D.E.	W	p
M	% ruido	58.36	25.71	0.92	0.00
	Amplitud RMS Max (dB)	-17.88	8.13	0.92	0.00
	Amp. RMS Media (dB)	-36.65	9.14	0.87	0.00
	Amplitud RMS Min (dB)	-50.15	11.94	0.80	0.00
	dB suelo Min	52.36	9.47	0.94	0.00
	dB suelo Max	63.37	8.40	0.94	0.00
T	% ruido	59.29	25.85	0.94	0.00
	Amplitud RMS Max (dB)	-18.43	7.02	0.88	0.00
	Amplitud RMS Media (dB)	-36.45	9.01	0.89	0.00
	Amplitud RMS Min (dB)	-48.40	12.41	0.81	0.00
	dB suelo Min	52.45	8.31	0.93	0.00
	dB suelo Max	64.39	6.72	0.93	0.00
N	% ruido	52.69	21.51	0.94	0.01
	Amplitud RMS Max (dB)	-14.53	3.97	0.95	0.03
	Amplitud RMS Media (dB)	-29.89	4.66	0.92	0.00
	Amplitud RMS Min (dB)	-42.89	6.54	0.83	0.00
	dB suelo Min	55.24	6.28	0.97	<b>0.40</b>
	dB suelo Max	66.71	6.20	0.97	<b>0.50</b>

Los resultados de los test de Kruskal Wallis mostraron diferencias significativas en la mayor parte de las variables a lo largo del día, excepto en la Frecuencia Dominante, la cual no mostró diferencias en ninguna de las dos rutas. El porcentaje de ruido, que varió significativamente en la RP 30 y los dB máximos a nivel de suelo que mostraron diferencias en los distintos momentos del día en la RN A005. Los análisis a posteriori mostraron para la RP 30 diferencias significativas principalmente entre la noche y los otros momentos del día, mientras que para la RN A005, las principales diferencias se observan entre la mañana y la noche (Tabla 4).

**Tabla 4.** Resultados de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para cada variable de ruido entre los momentos del día en cada ruta. Se resaltan las variables que mostraron diferencias significativas. Las letras diferentes al lado de cada momento del día (M-T-N) denotan diferencias significativas entre pares de muestras.

Ruta	Variable	M-T-N	Media	D.E	H	P
RP 30	% Ruido	M	35,45	18,04	1,03	0,5978
		T	42,00	28,41		
		N	40,17	18,89		
	Frecuencia Dominante (Hz)	M	427,27	297,60	2,47	0,2904
		T	369,36	216,55		
		N	496,70	319,38		
	Amplitud RMS Max (dB)	M <sup>A</sup>	-25,84	6,29	34,81	<b>&lt;0,0001</b>
		T <sup>A</sup>	-23,36	3,85		
		N <sup>B</sup>	-16,04	8,05		
	Amplitud RMS Media (dB)	M <sup>A</sup>	-47,17	4,71	65,62	<b>&lt;0,0001</b>
		T <sup>B</sup>	-44,37	8,77		
		N <sup>C</sup>	-30,54	5,93		
Amplitud RMS Min (dB)	M <sup>A</sup>	-61,29	12,27	49,54	<b>&lt;0,0001</b>	
	T <sup>B</sup>	57,13	14,73			
	N <sup>C</sup>	-43,99	4,75			
dB suelo Min	M <sup>A</sup>	42,44	5,60	34,50	<b>&lt;0,0001</b>	
	T <sup>A</sup>	44,95	7,30			
	N <sup>B</sup>	54,18	7,79			
dB suelo Max	M <sup>A</sup>	56,57	8,57	18,53	<b>&lt;0,0001</b>	
	T <sup>A</sup>	59,63	7,59			
	N <sup>B</sup>	64,80	6,77			
RN A005	% Ruido	M <sup>B</sup>	72,68	18,38	12,92	<b>0,0016</b>
		T <sup>B</sup>	70,10	16,83		
		N <sup>A</sup>	60,51	19,28		
	Frecuencia Dominante (Hz)	M	531,72	381,19	2,81	0,2446
		T	559,26	464,12		
		N	441,44	447,96		
	Amplitud RMS Max (dB)	M <sup>B</sup>	-12,90	4,27	14,06	<b>0,0009</b>
		T <sup>A</sup>	-15,36	3,92		
		N <sup>B</sup>	-13,59	3,79		
	Amplitud RMS Media (dB)	M <sup>AB</sup>	-30,07	2,92	7,16	<b>0,0278</b>
		T <sup>A</sup>	-31,50	4,52		
		N <sup>B</sup>	-29,48	3,66		
Amplitud RMS Min (dB)	M <sup>A</sup>	-43,18	3,46	7,76	<b>0,0206</b>	
	T <sup>AB</sup>	-42,94	6,23			
	N <sup>B</sup>	-42,20	7,41			
dB suelo Min	M <sup>B</sup>	58,56	5,08	7,12	<b>0,0285</b>	
	T <sup>AB</sup>	57,14	4,68			
	N <sup>A</sup>	55,91	5,09			
dB suelo Max	M	67,62	4,70	0,12	0,9406	
	T	67,36	3,86			
	N	67,90	5,56			

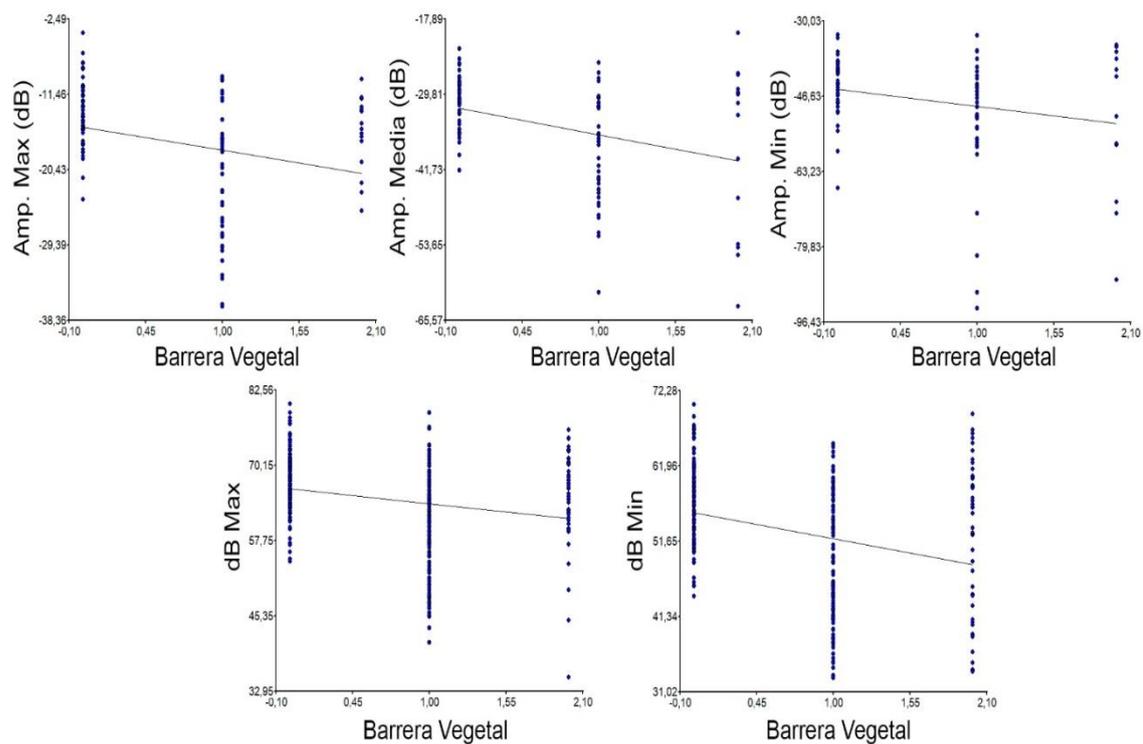
#### Relación entre las variables de ruido y las variables estructurales

Las regresiones simples de las variables de ruido (amplitud RMS máxima, media y mínima, dB a nivel de suelo máximos y mínimos vs presencia de barrera vegetal mostraron en todos los casos

una relación negativa significativa, con los valores de ruido disminuyendo con la mayor presencia de barrera vegetal (Tabla 5; Fig. 16).

**Tabla 5.** Resumen de los resultados de las Regresiones simples entre las variables de ruido vs barrera vegetal.

Variables de ruido	R	p-valor
Amplitud RMS Max (dB)	0.08	<0,0001
Amplitud RMS Media (dB)	0.12	<0,0001
Amplitud RMS Min (dB)	0.06	<0,0001
dB suelo (max)	0.06	<0,0001
dB suelo (min)	0.09	<0,0001

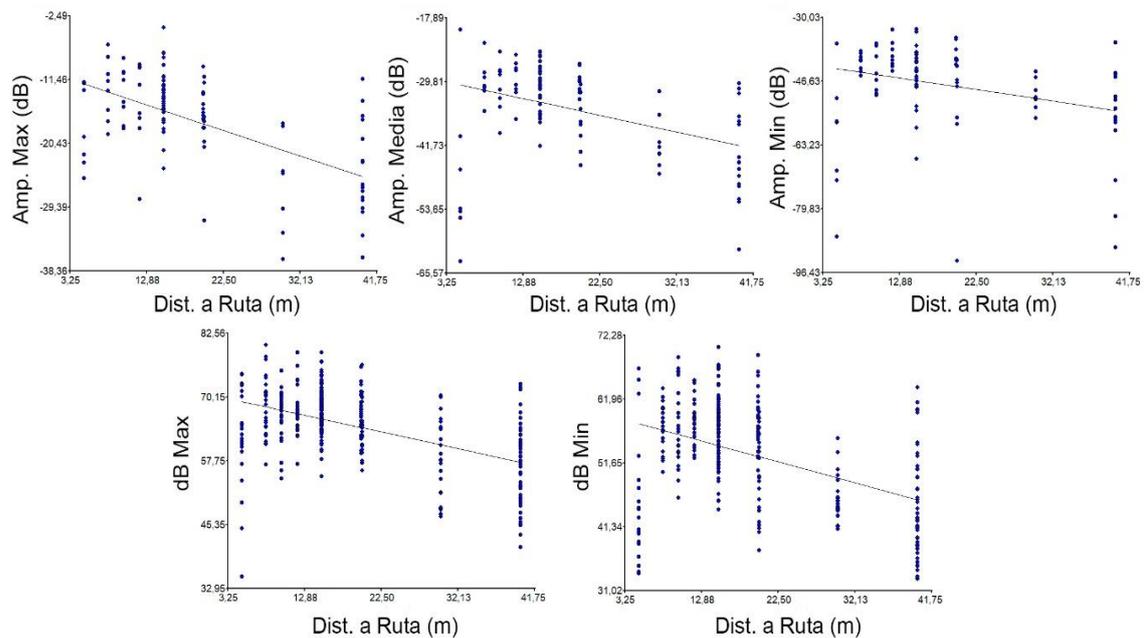


**Figura 16.** Regresiones simples mostrando la relación entre las diferentes variables de ruido y la presencia de barrera vegetal (0=ausencia; 1=pasto y vegetación baja; 2=arbustos altos y árboles).

Un resultado similar es observado en las regresiones simples realizadas entre las variables de ruido vs la distancia a la fuente de ruido. En todos los casos se observó una correlación negativa significativa en la cual a medida que disminuye la distancia de la laguna a la ruta, mayores son los valores de las variables ruido (Tabla 6; Fig. 17).

**Tabla 6.** Resumen de los resultados de las Regresiones simples entre las variables de ruido vs distancia.

Variables de ruido	R	p-valor
Amplitud RMS Max (dB)	0.33	<0,0001
Amplitud RMS Media (dB)	0.16	<0,0001
Amplitud RMS Min (dB)	0.09	<0,0001
dB suelo (max)	0.24	<0,0001
dB suelo (min)	0.20	<0,0001

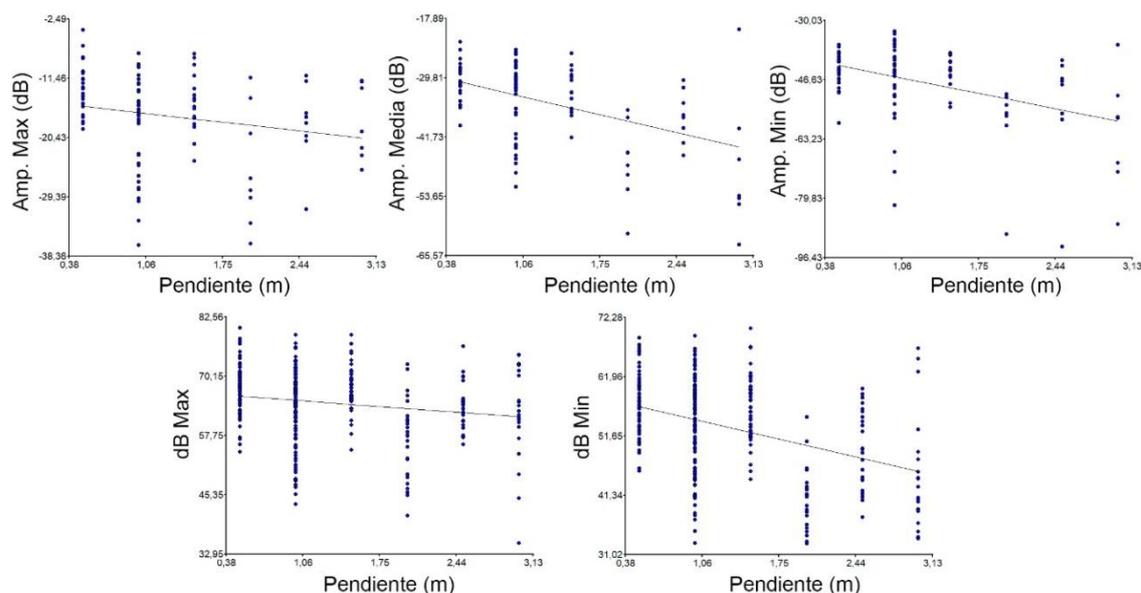


**Figura 17.** Regresiones simples mostrando la relación entre las diferentes variables de ruido y la distancia a la ruta.

Coincidiendo con los análisis anteriores, una relación negativa significativa fue observada también entre las variables de ruido y la pendiente, es decir, a medida que aumenta la pendiente del sitio respecto a la posición de la ruta disminuyen los valores de las variables ruido (Tabla 7, Fig. 18).

**Tabla 7.** Resumen de los resultados de las Regresiones simples entre las variables de ruido vs barrera vegetal.

Variables de ruido	R	p-valor
Amplitud RMS Max (dB)	0.04	0,0003
Amplitud RMS Media (dB)	0.20	<0,0001
Amplitud RMS Min (dB)	0.17	<0,0001
dB suelo (max)	0.03	<0,0001
dB suelo (min)	0.16	<0,0001



**Figura 18.** Regresiones simples mostrando la relación entre las diferentes variables de ruido y la pendiente

#### *Diferencias en niveles de ruido y riqueza específica entre rutas*

El promedio y desvío estándar de las variables de ruido por ruta se muestra en la Tabla 8. El análisis mediante Modelos Lineales Generalizados mostró diferencias entre rutas en la riqueza de especies y en todas las variables de ruido, excepto en la Frecuencia Dominante (Tabla 9). Todas las variables de ruido, inclusive la Frecuencia Dominante, mostraron ser mayores en la RN A005, mientras que la Riqueza fue mayor en la RP 30 (Fig. 19).

**Tabla 8.** Promedio y desvío estándar de las variables asociadas a ruido de tráfico vehicular para las rutas estudiadas.

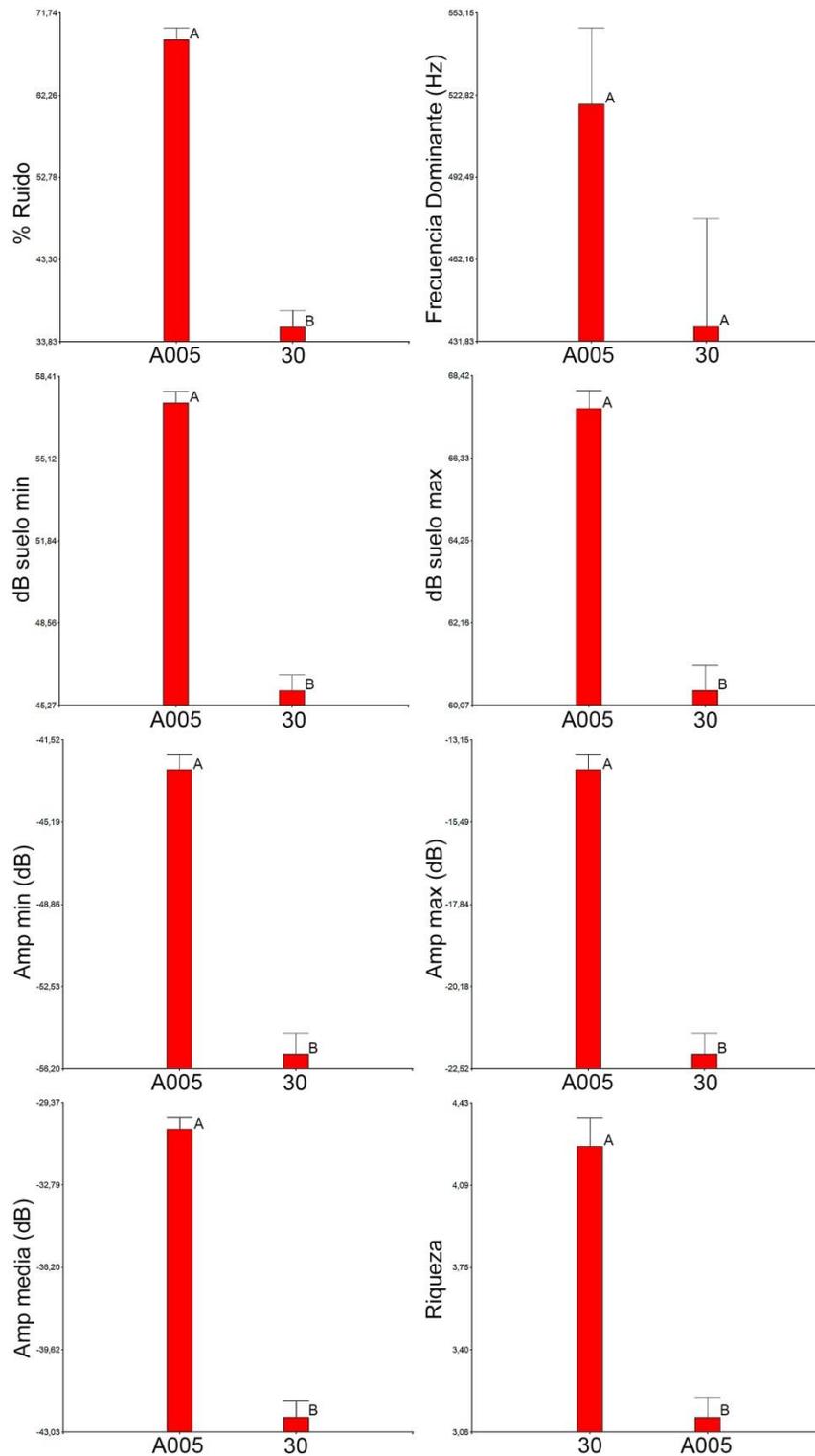
Variable	RP 30	RNA 005
% de Ruido	39,09 ± 22,68	68,67 ± 18,62
Frecuencia Dominante (Hz)	422,91 ± 278,23	519,48 ± 430,87
Amplitud RMS Max (dB)	-22,46 ± 7,56	-13,99 ± 4,15
Amplitud RMS Media (dB)	-41,96 ± 9,52	-30,46 ± 3,84
Amplitud RMS Min (dB)	-55,41 ± 13,73	-42,85 ± 5,70
dB suelo (min)	46,31 ± 8,25	57,36 ± 5,02
dB suelo (max)	59,78 ± 8,36	67,59 ± 4,62

**Tabla 9.** Resultados de los mejores ajustes de los MLG para las variables analizadas. AIC = Criterio de información de Akaike. Los valores P significativos en el nivel 0.05 están en negrita.

Factor	Amp RMS Max		Amp RMS Media		Amp RMS Min		% de Ruido	
	F	p	F	p	F	p	F	p
Ruta	13.05	<0.01	63.03	<0.0001	29.96	<0.001	13.20	<0.01

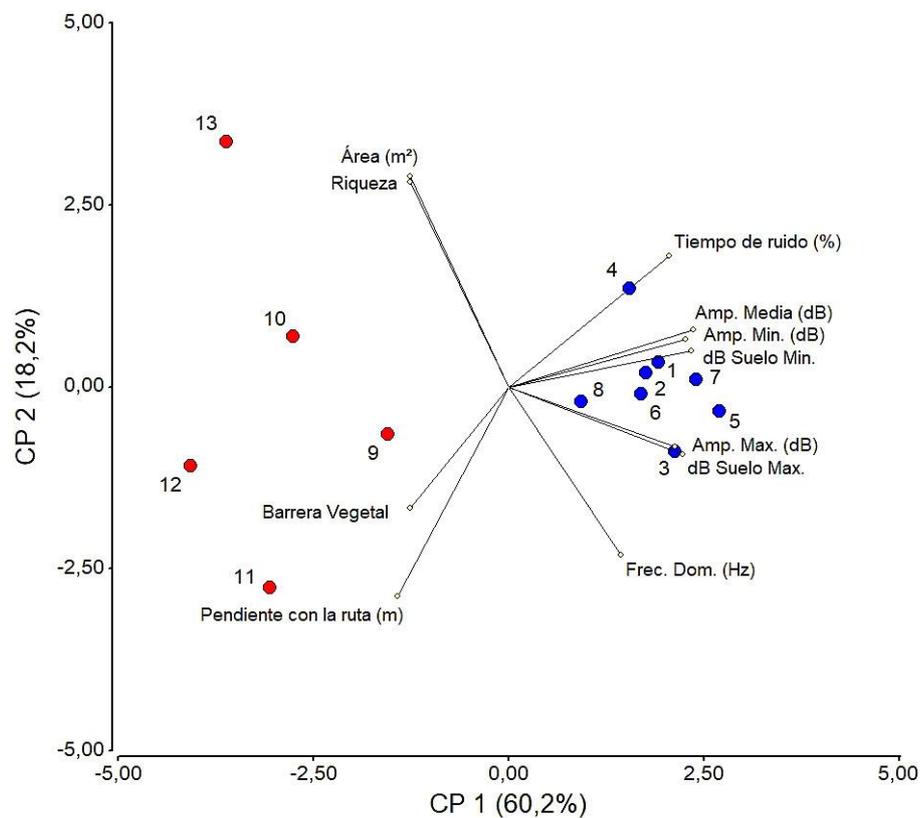
  

Factor	Frec Dominante		dB suelo (max)		dB suelo (min)		Riqueza	
	F	p	F	p	F	p	F	p
Ruta	2.53	0.1504	25.92	<0.001	77.15	<0.0001	6.43	<0.05



**Figura 19.** Diferencias en las variables de ruido y la riqueza entre rutas. Las letras diferentes sobre cada barra denotan diferencias significativas entre pares de muestras.

El análisis de componentes principales basado en las variables de ruido, estructura y riqueza arrojó seis componentes de los cuales los dos primeros explicaron un 79% de la variación de los datos (Tabla 10). El CP1 se asocia con las variables de ruido mientras que en el CP2 las variables con mayor peso son las estructurales y la riqueza (Tabla 10). El gráfico resultante muestra a la CP1 separando los sitios pertenecientes a la RN A005, asociados a los mayores valores de las variables de ruido, de los sitios de la RP 30, relacionados principalmente con valores mayores de riqueza y de las variables estructurales (Fig. 20).



**Figura 20.** Análisis de Componentes Principales basado en las variables de ruido, estructurales y riqueza correspondientes a 8 sitios de la RN A005 (círculos azules, 1-A005C; 2-A005PM; 3-A005RG; 4-A005P; 5-A005EX; 6-A005ET; 7-A005RC; 8-A005RN8) y 5 sitios de la RP 30 (círculos rojos, 9-RP30E; 10-RP30SE; 11-RP30CA; 12-RP30CE; 13-RP30LC).

**Tabla 10.** Análisis de Componentes Principales basado en las variables de ruido, estructurales y riqueza correspondiente a 13 sitios de muestreo.

Lambda	Valor	Proporción	Prop Acum
1	7.81	0.6	0.6
2	2.44	0.19	0.79
3	0.94	0.07	0.86
4	0.8	0.06	0.92
5	0.44	0.03	0.96
6	0.33	0.03	0.98

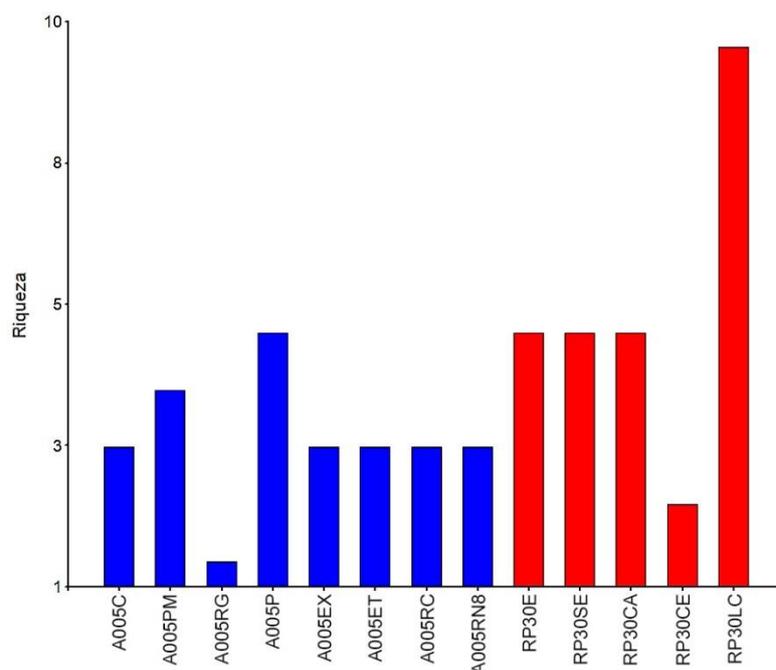
Variables	CP1	CP2
% de ruido	0,30222378	-0,33578053
Frecuencia Dominante	0,23472331	0,32545734
Amplitud RMS Max	0,33932408	0,11126511
Amplitud RMS Media	0,35993744	-0,16282014
Amplitud RMS Min	0,34280407	-0,15605405
dB suelo (min)	0,36153085	-0,10952551
dB suelo (max)	0,35438953	0,11963033
Distancia a ruta	-0,27476305	-0,32373027
Área	-0,21165094	-0,40765257
Pendiente con la ruta	-0,20055744	0,48126216
Barrera Vegetal	-0,18744211	0,26755268
Riqueza	-0,1985199	-0,34292697

#### *Análisis de la variación de riqueza específica y la abundancia relativa entre sitios*

En el área de estudio se relevaron un total de diez especies de anfibios anuros pertenecientes a siete géneros y cinco familias diferentes (Tabla 11). La riqueza específica por sitio comparando cada ruta se resume en la Figura 21. En general se observa un mayor número de especies en los sitios de la RP 30 siendo el sitio RP30LC el que muestra la mayor riqueza con 10 especies presentes. La riqueza específica mostró una relación positiva con la distancia a la fuente de ruido ( $R=0.13$ ;  $p<0.0001$ ) y con el área de los cuerpos de agua ( $R=0.61$ ;  $p<0.0001$ ), mientras que no hubo correlación con la pendiente ( $R=0.0024$ ;  $p=0.3913$ ) y la presencia de barrera vegetal ( $R=0.01$ ;  $p=0.075$ ).

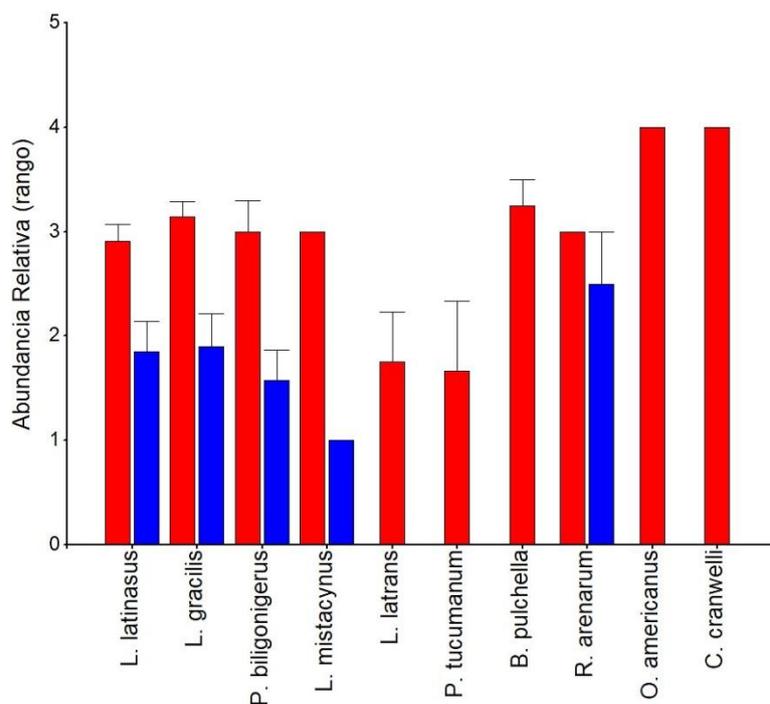
**Tabla 11.** Lista de especies relevadas en el área de estudio.

Familia	Género	Especie
BUFONIDAE	<i>Rhinella</i>	<i>R. arenarum</i>
LEPTODACTILYDAE	<i>Leptodactylus</i>	<i>L. gracilis</i>
		<i>L. latrans</i>
		<i>L. latinasus</i>
		<i>L. mistacynus</i>
	<i>Physalaemus</i>	<i>P. biligonigerus</i>
	<i>Pleurodema</i>	<i>P. tucumanum</i>
ODONTOPHRYNIDAE	<i>Odontophrynus</i>	<i>O. americanus</i>
CERATOPHRYIDAE	<i>Ceratophrys</i>	<i>C. cranwelli</i>
HYLIDAE	<i>Boana</i>	<i>B. pulchella</i>



**Figura 21.** Riqueza específica por sitio discriminando en rojo los sitios de muestreo de la RP N° 30 y en azul los de la RN A005.

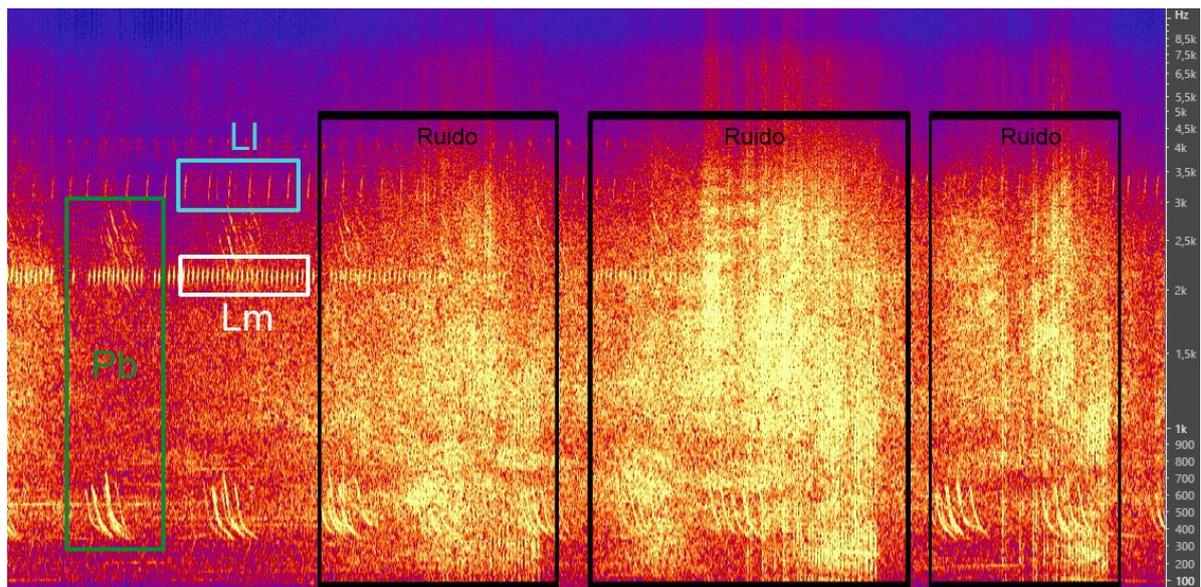
Las especies que fueron relevadas en ambas rutas mostraron una mayor abundancia relativa en los sitios pertenecientes a la RP 30 en comparación con lo observado en la RN A005 (Fig. 22).



**Figura 22.** Abundancia relativa para cada especie relevada para la RP 30 (rojo) y la RN A005 (azul). Rangos de abundancia: 1= <5 individuos; 2= 5-10 individuos; 3= >10 individuos; 4= >20 individuos.

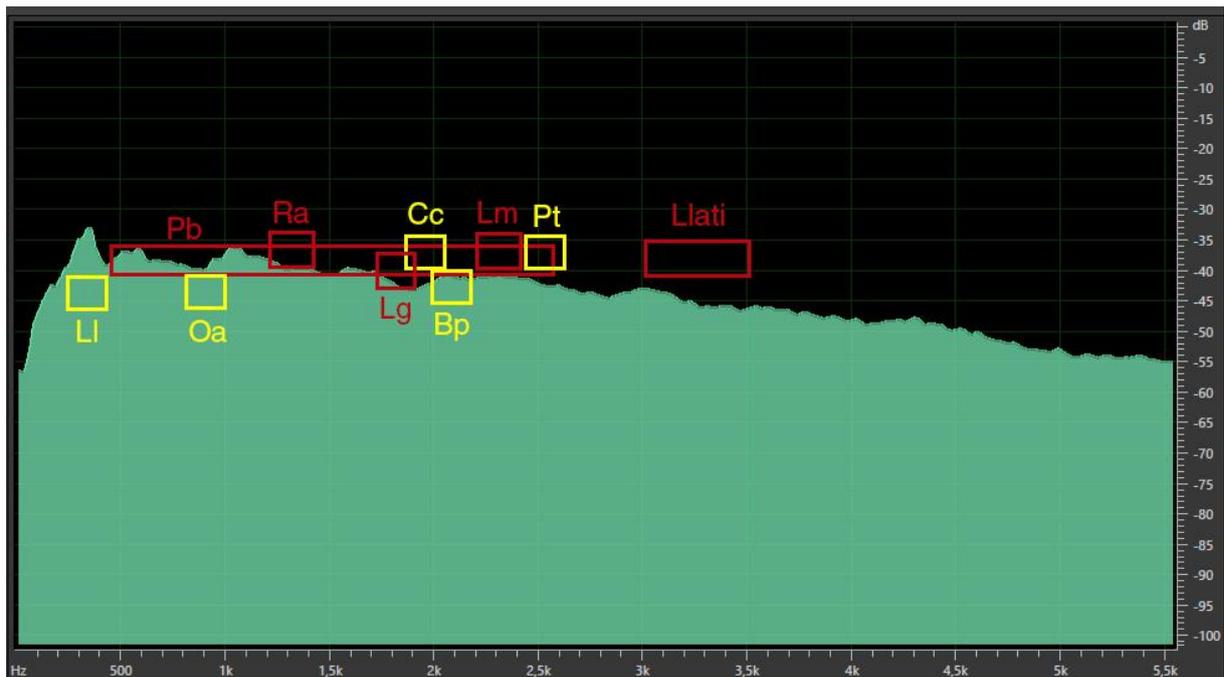
*Relación entre las características espectrales del ruido de tráfico vehicular y las vocalizaciones de las especies de anuros locales*

El análisis de ruido de tráfico vehicular mostró un rango espectral entre los 100 y los 4000 Hz (Fig. 23). Si bien las frecuencias dominantes promedio de ambas rutas no mostraron diferencias significativas, fue mayor el valor observado en la RN A005 (ver resultados MLG; Fig. 19). Esto se refleja en los gráficos de espectro de frecuencia de las Figuras 24 Y 25.

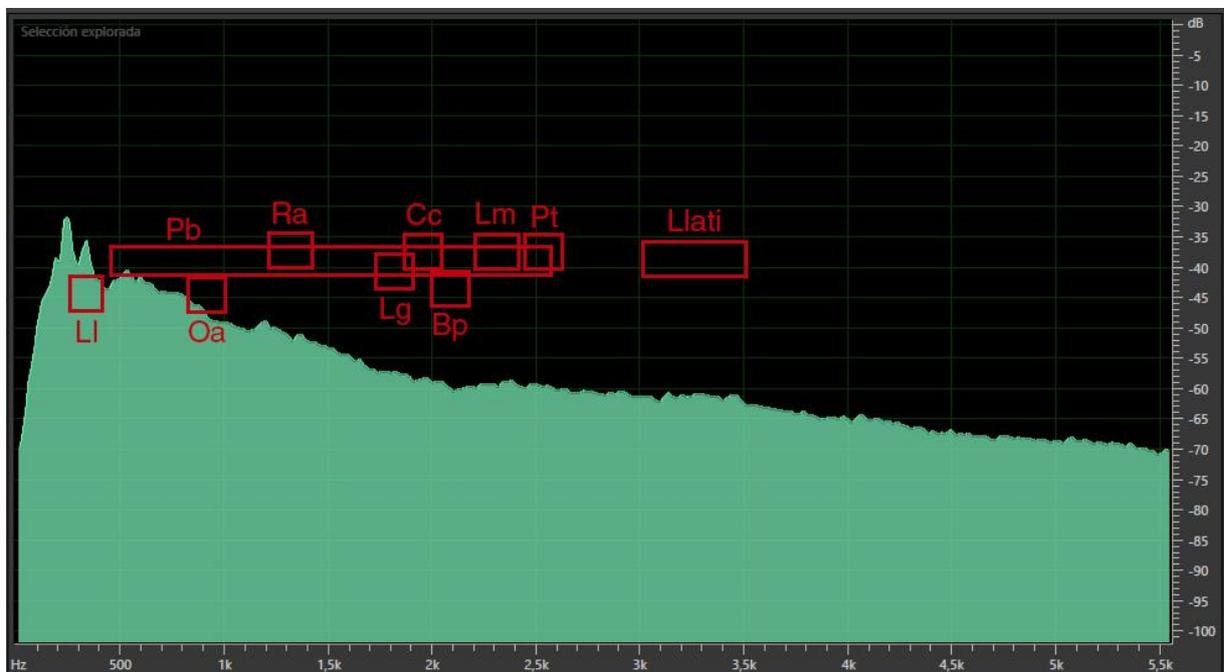


**Figura 23:** Sonograma mostrando la superposición de los rangos de frecuencia (Hz) del ruido de tráfico vehicular con la frecuencia de las vocalizaciones de tres especies de anuros locales. Pb: *Physalaemus biligonigerus*; Ll: *Leptodactylus latinasus*; Lm: *Leptodactylus mistacynus*.

Por otra parte, las frecuencias dominantes de las especies de anuros encontradas en los diferentes muestreos se ubican en un rango comprendido aproximadamente entre los 300 (*Leptodactylus latrans*) y los 3500 Hz (*L. latinasus*). Por esta razón, se observa una superposición espectral entre las vocalizaciones de las diferentes especies locales y el ruido producido por el tráfico vehicular (Ej. Fig. 23). Esta superposición se hace más evidente en la RN A005 que en la RP 30 debido a que los niveles de amplitud son relativamente similares a lo largo de todo el rango de frecuencias, como se observa en las figuras 24 y 25.



**Figura 24:** Solapamiento espectral del ruido de tráfico vehicular correspondiente a la RN A005 y las vocalizaciones de los anuros locales. En rojo se muestran las especies que se encontraron activas en esta ruta y en amarillo aquellas que no estuvieron presentes en los diferentes muestreos. Pb: *Physalaemus biligonigerus*; Ll: *Leptodactylus latrans*; Lm: *L. mistacynus*; Llati: *L. latinasus*; Lg: *L. gracilis*; Ra: *Rhinella arenarum*; Pt: *Pleurodema tucumanum*; Bp: *Boana pulchella*; Oa: *Odontophrynus americanus*; Cc: *Ceratophrys cranwelli*. Los rectángulos representan rangos de frecuencia y amplitudes RMS promedio (estimadas a partir de los registros acústicos existentes) para cada especie de anuro.



**Figura 25:** Solapamiento espectral del ruido de tráfico vehicular correspondiente a la RP 30 y las vocalizaciones de los anuros locales. En rojo se muestran las especies que se encontraron activas en los diferentes muestreos. Pb: *Physalaemus biligonigerus*; Ll: *Leptodactylus latrans*; Lm: *L. mistacynus*; Llati: *L. latinasus*; Lg: *L. gracilis*; Ra: *Rhinella arenarum*; Pt: *Pleurodema tucumanum*; Bp: *Boana pulchella*; Oa: *Odontophrynus americanus*; Cc: *Ceratophrys cranwelli*. Los rectángulos representan rangos de frecuencia y amplitudes RMS promedio (estimadas a partir de los registros acústicos existentes) para cada especie de anuro.

## DISCUSIÓN

Existen muchos estudios que demuestran y analizan los efectos que tienen las rutas sobre la vida silvestre (Forman y Deblinger, 2000; Gibbs y Shriver, 2002; Aresco, 2005; Row et al., 2007; Beebee, 2013; Cosentino et al., 2014; Rytwinski et al., 2016). Muchos de estos estudios asumen que el principal efecto negativo de las rutas sobre la biodiversidad es la muerte directa por colisión (*roadkill*), llegando a registrarse tasas de mortalidad, por ejemplo, de anuros del 25% de la población adulta al año (Cunnington y Fahrig, 2013). Sin embargo, un gran número de trabajos han demostrado el efecto negativo de la alteración acústica de origen antrópico en la fauna silvestre (Andrews et al., 2008; Barber et al., 2009; Bee y Swanson, 2007; Dowling et al., 2011; Owens, 2013; Cunnington y Fahrig, 2013; Lukanov et al., 2014; Penna y Zúñiga, 2014; Grenat et al., 2019). Estos efectos están presentes en todas las rutas y suelen alcanzar los 600 metros hacia ambos lados de la carpeta asfáltica, variando según la intensidad del tráfico (Forman y Deblinger, 2000; Beebee, 2013; Cosentino et al., 2014). Sumado a esto, se conoce que este tipo de perturbación de origen antrópico no solo afecta a los anfibios sino a toda la fauna local que se comunican por medio de señales acústicas, tales como aves y murciélagos (ej. Forman y Deblinger, 2000; Bonsen et al., 2015).

Varios estudios han demostrado que los machos de algunas especies de anuros alteran sus cantos de apareamiento en presencia de ruido de tráfico (Barber et al., 2009; Bee y Swanson, 2007; Cunnington y Fahrig, 2013; Lukanov et al., 2014; Grenat et al., 2019). Es posible que tales alteraciones en las vocalizaciones mejoren la capacidad de los machos para atraer a sus parejas (Cunnington y Fahrig, 2013) aunque no está del todo claro si realmente compensan de manera eficiente las perturbaciones acústicas en ambientes asociados a las rutas (Grenat et al., 2019).

A pesar de los numerosos estudios relacionados con el efecto de la perturbación acústica sobre la comunicación animal, pocos han sido centrados en la caracterización detallada del ruido propiamente dicho (ej. Slabbekoorn, 2004). Por otra parte, así como las características del entorno utilizado para la comunicación acústica pueden afectar la transmisión de sonidos por la atenuación y degradación de la señal (Wiley y Richards, 1982; Slabbekoorn, 2004), también pueden favorecer la disminución de los niveles de ruido percibidos en un sitio en particular.

En el presente estudio se encontraron diferencias entre las dos rutas analizadas no solo en cuanto a las variables de ruido sino también en las variables estructurales de los diferentes sitios relevados. La RN A005 presentó los mayores valores para las variables de ruido, y esto puede deberse a varios factores: funciona como nexo entre rutas de gran importancia como la RN 36 y la RN 8, presentando tráfico casi continuo, principalmente durante la mañana y la tarde; representa la circunvalación de la ciudad de Río Cuarto y por ello es ampliamente utilizada por los habitantes de la misma para moverse a diferentes puntos de la ciudad evitando el micro y macrocentro; presenta un flujo importante de tránsito pesado. Mientras tanto, la RP 30 muestra en promedio valores de ruido más bajos, presentando solo en el primer tramo un mayor tráfico vehicular debido principalmente al acceso a un barrio privado en ese sector, continuando con largos tramos rodeados por zona rural, con menores índices de tráfico.

En lo que respecta a las variables estructurales (pendiente, barrera de vegetación y distancia a la fuente de ruido) los sitios pertenecientes a la RN A005 tiene en promedio menores valores para todas las variables estructurales. Debido a la expansión del ejido urbano de Río Cuarto en las últimas décadas, esta ruta ha quedado rodeada por áreas con diferentes grados de urbanización (barrios, asentamiento de diferentes empresas y fábricas, calles colectoras, etc). Esto, sumado a su condición de vía principal, favorece un mayor mantenimiento de banquetas reduciendo de esta manera la altura de la vegetación y una menor distancia entre los potenciales sitios de reproducción y la carpeta asfáltica. Por el contrario, los sitios de la RP 30 tienen pendientes más abruptas, la distancia de la ruta con las lagunas es por lo general mayor y los cuerpos de agua se forman en la porción más profunda de las banquetas o en los bordes de los campos, a menudo poco mantenidos o arbolados.

Los análisis estadísticos mostraron que las variables estructurales presentan correlación lineal negativa con las variables de ruido, debido a que las primeras interfieren con la propagación del ruido de tráfico vehicular hacia las lagunas. En el caso de la vegetación actúa como una barrera física semipermeable atenuante (Van Renterghem y Botteldooren, 2012; Maleki y Hosseini, 2011), mientras que una mayor distancia y pendiente del sitio respecto a la carpeta asfáltica, reduce los niveles de propagación del ruido, dado que el roce con las moléculas del aire y la amortiguación producida por la vegetación (aunque esta sea escasa) favorecen una rápida disipación del sonido (Warren et

al., 2006; Goosem et al., 2007; Francis y Barber, 2013). Por otro lado, Dowling et al. (2011), indican que las vocalizaciones deben estar específicamente adaptadas a la estructura y a las características acústicas del entorno local de un organismo. De esta manera, si los animales en un área en particular no pueden comunicarse debido a la interferencia acústica ambiental, como la presencia de objetos, vegetación o ruido, la calidad del hábitat en esa área se reduce efectivamente, lo que puede resultar en la disminución de la densidad y distribución de las especies (Sun y Narins, 2005). De esta manera, si bien la vegetación puede ser beneficiosa al actuar como barrera física ante el ruido también puede influir negativamente en el alcance de las señales emitidas por los vocalizadores. Este hecho podría explicar la elección de sitios abiertos, sin barreras acústicas evidentes, que fue observada en nuestro estudio. En cambio, la distancia de los sitios de reproducción con la fuente de ruido podría representar una mejor estrategia para reducir la interferencia acústica favoreciendo así la elección de determinados cuerpos de agua.

Varios estudios han demostrado que la riqueza y abundancia poblacional de especies vocales está directamente relacionada con la distancia a la fuente de ruido (*road-effect zone*; Reijnen et al., 1995; Forman y Deblinger, 2000; Boarman y Sazaki, 2006; Semlitsch et al., 2007; Eigenbrod et al., 2009), aunque en los pocos estudios realizados en anuros se reportan resultados ambiguos. Herrera-Montes y Aide (2011) reportaron que la distribución y riqueza de especies de ranas del género *Eleutherodactylus* en áreas forestales ubicadas cerca (<100 m) o lejos (>300 m) de caminos en Puerto Rico no varió estadísticamente con la proximidad de la ruta, a pesar de que el ruido del tráfico fue significativamente mayor en los lugares cercanos a los caminos. Los niveles de ruido de tráfico en los sitios cercanos a estas rutas oscilaron entre 65 y 75 dB, mientras que los niveles de ruido lejos de los caminos variaron entre 50 y 60 dB. En nuestro trabajo los sitios que estuvieron más próximos a la ruta fueron los de la RP A005, donde los niveles de ruido promedio variaron entre 65 y 73 dB, mientras que los más distantes fueron los de la RP 30, y el ruido osciló entre 56 y 63 dB. Sin embargo, en todos los casos los sitios elegidos para nuestro estudio estuvieron a menos de 100 m de la carpeta asfáltica. Los resultados encontrados por Herrera-Montes y Aide (2011) pueden explicarse según los autores debido a que las vocalizaciones de los eleuterodactilidos puertorriqueños presentan un rango alto de frecuencias dominantes que se extiende desde los 2000 Hz hasta alrededor de los 7000 Hz, más alta que los picos espectrales dominantes en el ruido del tráfico, que

ronda los 2000 Hz. Contrario a este trabajo, en nuestro estudio la riqueza y abundancia fueron superiores en los sitios más distantes, probablemente atribuido a que el ruido de tráfico vehicular en sitios cercanos a la ruta mostró un espectro evidente entre los 100 y 3500 Hz, con una amplitud de ruido similar a lo largo de todo el rango, solapándose con las frecuencias dominantes de las especies de anuros encontradas (entre los 300 - *Leptodactylus latrans* - y los 3500 Hz - *L. latinasus*).

En algunos animales, como las aves, se espera que las especies que producen frecuencias de vocalizaciones que se superponen con el ruido de fondo muestren cambios positivos en esta propiedad, lo cual es predicho por la Hipótesis de Adaptación Acústica (Rabin et al., 2003; Goodwin y Shriver, 2011). Sin embargo, modificar las frecuencias de los cantos no es una regla general en los anuros (Roca et al., 2016). Mientras que algunas especies de anuros aumentan su frecuencia dominante en escenarios ruidosos (*Litoria ewingii* - Parris et al., 2009; *Rana clamitans* y *R. pipiens* - Cunnington y Fahrig, 2010; *Odontophrynus americanus* – Grenat et al., 2019) otras especies cambian negativamente o no muestran ningún cambio en esta propiedad (*Hyla arborea* - Lengagne, 2008; *Crinia signifera* - Parris et al., 2009; *H. versicolor* y *Bufo americanus* - Cunnington y Fahrig, 2010; *Pseudacris crucifer* - Hanna et al., 2014). Estas diferencias podrían estar relacionadas con la mayor o menor superposición de los picos de frecuencia de sus vocalizaciones con las frecuencias de ruido de tráfico. Sin embargo, en los anuros esta propiedad posee limitaciones físicas asociadas con el tamaño corporal del individuo (Castellano and Giacoma, 1998), por lo que el rango de variación en la frecuencia es restringido. Por esto, aquellas especies que no pueden responder a la interferencia del ruido aumentando la frecuencia de sus cantos podrían evitar los sitios cercanos a las fuentes de ruido como estrategia (Simmons y Narins, 2018). En este sentido, Eigenbrod et al. (2009) analizó la abundancia de nueve especies de anuros en cuerpos de agua localizados a diferentes distancias de una autopista de alto tráfico en Canadá reportando un gradiente de efecto-ruta de hasta 1000 m con una mayor riqueza de especies y abundancia de cada una de ellas en los sitios más alejados de la ruta. En general, la distancia desde la autopista explicó el 51% de la variación en la riqueza de especies, con cinco de esas especies más afectadas negativamente por la presencia de esta perturbación.

En cuanto a la riqueza específica y abundancia, los sitios de la RP 30 presentaron en general más especies de anuros y coros más grandes, siendo el sitio “RP30LC” el que

mostró los mayores valores de estos parámetros. De acuerdo a lo discutido en párrafos anteriores, este resultado puede ser explicado probablemente por el hecho de que los sitios de esta ruta tienen menores valores para las variables ruido y mayores valores para las variables estructurales, es decir, el nivel de perturbación acústica de origen antrópico es menor, presentan mayor vegetación entre los sitios de reproducción y la fuente de ruido y las lagunas se encuentran a mayor distancia y con mayor pendiente respecto de la ruta. Sumado a estas características, y contrario a lo que se observa en la RN A005, la RP 30 presenta ambientes rurales a ambos lados de la ruta que aportan un muy bajo nivel de perturbación acústica antrópica. Estos resultados coinciden con aquellos obtenidos por otros autores (Fahrig et al., 1995; Carr y Fahrig, 2001; Karraker et al., 2008; Cosentino et al., 2014), quienes argumentan que la distribución y riqueza de especies de la mayoría de los anuros se relacionaron negativamente con la intensidad de la perturbación al costado de las rutas, debido a que interrumpe procesos que son importantes para la presencia y persistencia de los anfibios.

El ruido puede actuar directamente reduciendo la riqueza de especies al enmascarar los coros de reproducción, reduciendo el éxito reproductivo o al actuar como una señal negativa durante la selección del hábitat (Cosentino et al., 2014). Tanto las hembras como los machos de anuros utilizan las vocalizaciones de sus coespecíficos para localizar y orientarse hacia los sitios de reproducción (Gerhardt y Huber, 2002). Si la capacidad para localizar y orientarse está comprometida, esta perturbación puede tener un impacto directo en la reproducción exitosa de los anuros. También, el ruido puede tener impactos fisiológicos más directos. Tennessen et al. (2014) encontraron que las hembras de la rana *Lithobates sylvaticus* no solo tenían una capacidad reducida para orientarse en situaciones de mucho ruido, sino que también tenían niveles elevados de corticosterona, la hormona del estrés. Consecuentemente, se han encontrado niveles elevados de corticosterona en los anfibios que sometidos a otros estresores, por ejemplo a la infección por *Batrachochytrium dendrobatidis* (Gabor et al., 2013). Actualmente, se desconoce cómo afecta la corticosterona a la fisiología y la salud de las gametas. Sin embargo, se ha sugerido que los niveles extremadamente elevados de corticosterona pueden inhibir la reproducción en anfibios (Moore y Jessop, 2003).

Es importante tener en cuenta que el efecto y el grado con el que puede afectar la presencia de rutas a los anfibios no es el mismo para todas las especies. Además del

impacto del ruido propiamente dicho, en general, los anuros pueden verse afectados al utilizar sitios reproductivos asociados a rutas por un amplio rango de efectos. Para las especies con ciclos de vida bifásicos y movilidad reducida, las rutas pueden aumentar el riesgo de mortalidad durante las migraciones de reproducción, lo que en última instancia aumenta la probabilidad de extinción local (Gibbs y Shriver, 2005; Beebee, 2013). Además, la mortalidad asociada con las rutas puede cambiar la estructura de edad de las poblaciones, lo que da como resultado hembras más pequeñas con menor fecundidad (Barras, 1985; Karraker y Gibbs, 2011). Por otro lado, las rutas constituyen barreras físicas para la migración de los sitios de reproducción y, de este modo, limitan el número de animales en estos sitios y, en consecuencia, la actividad reproductiva (Simmons y Narins, 2018). Esta fragmentación por caminos a escalas de paisaje puede también disminuir la viabilidad y conectividad de las metapoblaciones al restringir la dispersión entre las poblaciones (Hels y Nachmann, 2002).

Finalmente, una pregunta importante para la gestión y mitigación de los efectos de las rutas sobre la vida silvestre es qué tan lejos de las rutas se extienden sus efectos, es decir, la denominada “zona de efecto-ruta” (*road-effect zone*; Forman y Alexander, 1998). Pocos estudios han cuantificado la extensión de este efecto para diferentes grupos animales y en todos los casos queda claro que no es un valor extrapolable a otras situaciones más allá de las analizadas en cada estudio (Reijnen et al., 1995; Forman y Deblinger, 2000; Boarman y Sazaki, 2006; Semlitsch et al., 2007; Eigenbrod et al., 2009). Este efecto puede revelarse indirectamente por un aumento gradual en la abundancia de especies al incrementar la distancia desde una ruta hasta un punto más allá del cual no se puede detectar ningún efecto (Eigenbrod et al., 2009). En nuestro estudio encontramos la mayor riqueza de especies en el sitio más alejado de la ruta (RP30LC) localizada a unos 40 m de la misma, distancia que puede ampliarse a más de 100 m en la orilla más alejada de la laguna respecto a la carpeta asfáltica. En este sitio se encontraron las diez especies conocidas para la región (Babini et al., 2015; Colección ECOEA-GIHRC). Sin embargo, esta zona de efecto-ruta no debería ser extrapolada a la RN A005 debido a la variabilidad en la intensidad de la perturbación y a las características del entorno rutas.

En conclusión, este trabajo constituye una primera aproximación para analizar y cuantificar el efecto-ruta sobre la comunidad de anfibios anuros locales. Los resultados obtenidos muestran que a pesar de que la fuente de perturbación sea la misma (rutas), la

estructura del perfil de ruido y el grado en la que se propaga y es percibido el ruido en los sitios de reproducción de los anuros depende de un conjunto de variables propias de cada hábitat (índice de tráfico vehicular, variación diaria, variables estructurales de los sitios, etc.) que deberían ser consideradas al realizar estudios que evalúen las respuestas de los individuos a este tipo de contaminación. En tanto, nuevos monitoreos y la inclusión de más sitios a lo largo de estas rutas, abarcando franjas mayores a cada lado de las mismas, serían necesarios para validar nuestros resultados y establecer zonas de efecto-ruta más precisas que permitan sugerir medidas de mitigación y manejo con el fin de minimizar el impacto de esta perturbación sobre los anfibios locales.

## BIBLIOGRAFÍA

- Andrews, K.M. y D.M. Jochimsen. 2007. Ecological effect of road infrastructure on herpetofauna: understanding biology and increasing communication. Proceedings of the 2007 International Conference on Ecology and Transportation. Raleigh, NC. 567-582.
- Anthony, L. L., y Blumstein, D. T. (2000). Integrating behaviour into wildlife conservation: the multiple ways that behaviour can reduce Ne. *Biological conservation*, 95(3), 303-315.
- Aresco, M. J. (2005). The effect of sex-specific terrestrial movements and roads on the sex ratio of freshwater turtles. *Biological Conservation*, 123(1), 37-44.
- Babini, M. S., Salas, N. E., de Lourdes Bionda, C., y Martino, A. L. (2015). Implicaciones de la urbanización en la presencia, distribución y ecología reproductiva de la fauna de anuros de una ciudad del área central de Argentina. *Revista mexicana de biodiversidad*, 86(1), 188-195.
- Barber, J. R., Crooks, K. R., y Fristrup, K. M. (2010). The costs of chronic noise exposure for terrestrial organisms. *Trends in ecology & evolution*, 25(3), 180-189.
- Barras, R., y Ferguson, D. (1985). A spectral analysis of building cycles in Britain. *Environment and Planning A*, 17(10), 1369-1391.
- Barrientos, R., Ascensão, F., Beja, P., Pereira, H. M., & Borda-de-Água, L. (2019). Railway ecology vs. road ecology: similarities and differences. *European journal of wildlife research*, 65(1), 12.
- Bee, M. A., & Swanson, E. M. (2007). Auditory masking of anuran advertisement calls by road traffic noise. *Animal Behaviour*, 74(6), 1765-1776.
- Beebee, T. J. (2013). Effects of road mortality and mitigation measures on amphibian populations. *Conservation Biology*, 27(4), 657-668.
- Bell, A. M., Hankison, S. J., y Laskowski, K. L. (2009). The repeatability of behaviour: a meta-analysis. *Animal behaviour*, 77(4), 771-783.
- Blumstein, D. T., Mennill, D. J., Clemins, P., Girod, L., Yao, K., Patricelli, G., ... y Hanser, S. F. (2011). Acoustic monitoring in terrestrial environments using microphone arrays: applications, technological considerations and prospectus. *Journal of Applied Ecology*, 48(3), 758-767.

- Boarman, W. I., y Sazaki, M. (2006). A highway's road-effect zone for desert tortoises (*Gopherus agassizii*). *Journal of Arid Environments*, 65(1), 94-101.
- Bonsen, G., Law, B., y Ramp, D. (2015). Foraging strategies determine the effect of traffic noise on bats. *Acta Chiropterologica*, 17(2), 347-357.
- Brumm, H., Voss, K., Köllmer, I., y Todt, D. (2004). Acoustic communication in noise: regulation of call characteristics in a New World monkey. *Journal of Experimental Biology*, 207(3), 443-448.
- Buchholz, R. (2007). Behavioural biology: an effective and relevant conservation tool. *Trends in Ecology & Evolution*, 22(8), 401-407.
- Caorsi, V. Z., Both, C., Cechin, S., Antunes, R., y Borges-Martins, M. (2017). Effects of traffic noise on the calling behavior of two Neotropical hyliid frogs. *PloS one*, 12(8), e0183342.
- Caro, T. (2007). Behavior and conservation: a bridge too far?. *Trends in ecology & evolution*, 22(8), 394-400.
- Carr, L. W., y Fahrig, L. (2001). Effect of road traffic on two amphibian species of differing vagility. *Conservation Biology*, 15(4), 1071-1078.
- Christie, K. W., Schul, J., y Feng, A. S. (2019). Differential effects of sound level and temporal structure of calls on phonotaxis by female gray treefrogs, *Hyla versicolor*. *Journal of Comparative Physiology A*, 1-16.
- Cosentino, B. J., Marsh, D. M., Jones, K. S., Apodaca, J. J., Bates, C., Beach, J., ... y Fawson, G. (2014). Citizen science reveals widespread negative effects of roads on amphibian distributions. *Biological Conservation*, 180, 31-38.
- Cunnington, G. M., Fahrig, L. (2010). Plasticity in the vocalizations of anurans in response to traffic noise. *Acta Oecológica*, 36, 463-470.
- Cunnington, G. M., y Fahrig, L. (2013). Mate attraction by male anurans in the presence of traffic noise. *Animal Conservation*, 16(3), 275-285.
- Di, G., y Xu, Y. (2017). Influences of combined traffic noise on anxiety in mice. *Science of the total environment*, 579, 1439-1445.
- Dorcas, ME, Price, SJ, Walls, SC, y Barichivich, WJ (2009). Monitorización auditiva de poblaciones de anuros. *Ecología y conservación de anfibios: un manual de técnicas*. Oxford University Press, Oxford, 281-298.

- Dowling, J. L., Luther, D. A., y Marra, P. P. (2011). Comparative effects of urban development and anthropogenic noise on bird songs. *Behavioral Ecology*, 23(1), 201-209.
- Duellman, W. E., y Trueb, L. (1994). *Biology of amphibians*. JHU press.
- Eigenbrod, F., Hecnar, S. J., y Fahrig, L. (2009). Quantifying the road-effect zone: threshold effects of a motorway on anuran populations in Ontario, Canada. *Ecology and Society*, 14(1).
- Fahrig, L., Pedlar, J. H., Pope, S. E., Taylor, P. D., y Wegner, J. F. (1995). Effect of road traffic on amphibian density. *Biological conservation*, 73(3), 177-182.
- Forman, R. T., y Deblinger, R. D. (2000). The ecological road-effect zone of a Massachusetts (USA) suburban highway. *Conservation biology*, 14(1), 36-46.
- Francis, C. D., & Barber, J. R. (2013). A framework for understanding noise impacts on wildlife: an urgent conservation priority. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11(6), 305-313.
- Frost, D. R. (2019). *Amphibian Species of the World: an Online Reference*. Version 6.0 (Date of access: 13/06/2019). Electronic Database accessible at <http://research.amnh.org/herpetology/amphibia/index.html>. American Museum of Natural History, New York, USA.
- Gabor, C. R., Fisher, M. C., y Bosch, J. (2013). A non-invasive stress assay shows that tadpole populations infected with *Batrachochytrium dendrobatidis* have elevated corticosterone levels. *PloS one*, 8(2), e56054.
- Gasc, A., Sueur, J., Jiguet, F., Devictor, V., Grandcolas, P., Burrow, C., ... y Pavoine, S. (2013). Assessing biodiversity with sound: Do acoustic diversity indices reflect phylogenetic and functional diversities of bird communities? *Ecological Indicators*, 25, 279-287.
- Gibbs, J. P., y Shriver, W. G. (2002). Estimating the effects of road mortality on turtle populations. *Conservation Biology*, 16(6), 1647-1652.
- Gill, S. A., Job, J. R., Myers, K., Naghshineh, K., y Vonhof, M. J. (2014). Toward a broader characterization of anthropogenic noise and its effects on wildlife. *Behavioral Ecology*, 26(2), 328-333.
- González, A. E. (2014). What Does “Noise Pollution” Mean?. *Journal of Environmental Protection*, 5(04), 340.

- Goosem, M. (2007). Fragmentation impacts caused by roads through rainforests. *Current Science*, 1587-1595.
- Grabarczyk, E., Pipkin, M., Vonhof, M., y Gill, S. (2018). When to change your tune? Unpaired and paired male house wrens respond differently to anthropogenic noise. *Journal of Ecoacoustics*, 2, 49008-5.
- Grace, M. K., & Noss, R. F. (2018). Evidence for selective avoidance of traffic noise by anuran amphibians. *Animal conservation*, 21(4), 343-351.
- Grenat, P. R., Pollo, F. E., Ferrero, M. A., y Martino, A. L. (2019). Differential and additive effects of natural biotic and anthropogenic noise on call properties of *Odontophrynus americanus* (Anura, Odontophryinidae): Implications for the conservation of anurans inhabiting noisy environments. *Ecological Indicators*, 99, 67-73.
- Gross, K., Pasinelli, G., y Kunc, H. P. (2010). Behavioral plasticity allows short-term adjustment to a novel environment. *The American Naturalist*, 176(4), 456-464.
- Hanna, D. E., Wilson, D. R., Blouin-Demers, G., Mennill, D. J. (2014). Spring peepers *Pseudacris crucifer* modify their call structure in response to noise. *Current Zoology*, 60(4), 438-448.
- Herrera-Montes, M. I., y Aide, T. M. (2011). Impacts of traffic noise on anuran and bird communities. *Urban Ecosystems*, 14(3), 415-427.
- Höbel, G. (2015). Sexual differences in responses to cross-species call interference in the green treefrog (*Hyla cinerea*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 69(5), 695-705.
- Karraker, N. E., Gibbs, J. P., y Vonesh, J. R. (2008). Impacts of road deicing salt on the demography of vernal pool-breeding amphibians. *Ecological Applications*, 18(3), 724-734.
- Karraker, N. E., y Gibbs, J. P. (2011). Contrasting road effect signals in reproduction of long-versus short-lived amphibians. *Hydrobiologia*, 664(1), 213-218.
- Katti, M., & Warren, P. S. (2004). Tits, noise and urban bioacoustics. *Trends in Ecology & Evolution*, 19(3), 109-110.
- Laiolo, P. (2010). The emerging significance of bioacoustics in animal species conservation. *Biological conservation*, 143(7), 1635-1645.
- Lavilla, E.O. 2001. Amenazas, declinaciones poblacionales y extinciones en anfibios argentinos. *Cuadernos de Herpetología* 15: 59-82.

- Linke, S., Gifford, T., Desjonquères, C., Tonolla, D., Aubin, T., Barclay, L., ... y Sueur, J. (2018). Freshwater ecoacoustics as a tool for continuous ecosystem monitoring. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 16(4), 231-238.
- Lukanov, S., Simeonovska-Nikolova, D., y Tzankov, N. (2014). Effects of traffic noise on the locomotion activity and vocalization of the Marsh Frog, *Pelophylax ridibundus*. *North-Western Journal of Zoology*, 10(2).
- Maleki, K., y Hosseini, S. M. (2011). Investigation of the effects of leaves, branches and canopies of trees on noise pollution reduction. *Annals of Environmental Science*, 5, 13-21.
- Marques, T. A., Thomas, L., Martin, S. W., Mellinger, D. K., Ward, J. A., Moretti, D. J., ... y Tyack, P. L. (2013). Estimating animal population density using passive acoustics. *Biological Reviews*, 88(2), 287-309.
- McMullen, H., Schmidt, R., y Kunc, H. P. (2014). Anthropogenic noise affects vocal interactions. *Behavioural Processes*, 103, 125-128.
- Moore, I. T., y Jessop, T. S. (2003). Stress, reproduction, and adrenocortical modulation in amphibians and reptiles. *Hormones and Behavior*, 43(1), 39-47.
- Nelson, D. V., Klinck, H., Carbaugh-Rutland, A., Mathis, C. L., Morzillo, A. T., & Garcia, T. S. (2017). Calling at the highway: The spatiotemporal constraint of road noise on Pacific chorus frog communication. *Ecology and evolution*, 7(1), 429-440.
- Nemeth, E., & Brumm, H. (2010). Birds and anthropogenic noise: are urban songs adaptive? *The American Naturalist*, 176(4), 465-475.
- Nityananda, V., y Bee, M. A. (2012). Spatial release from masking in a free-field source identification task by gray treefrogs. *Hearing research*, 285(1-2), 86-97.
- Oliva, M. V., Kaiser, K., Robertson, J. M., y Gray, D. A. (2018). Call recognition and female choice in a treefrog with a multicomponent call. *Ethology*, 124(5), 331-337.
- Orci, K. M., Petróczki, K., y Barta, Z. (2016). Instantaneous song modification in response to fluctuating traffic noise in the tree cricket *Oecanthus pellucens*. *Animal behaviour*, 112, 187-194.
- Owens, J. L. (2013). Effects of Traffic Noise on the Social Behavior of Tufted Titmice (*Baeolophus bicolor*).
- Parris, K. M., Velik-Lord, M., y North, J. M. (2009). Frogs call at a higher pitch in traffic noise. *Ecology and Society*, 14(1).

- Penna, M., y Zúñiga, D. (2014). Strong responsiveness to noise interference in an anuran from the southern temperate forest. *Behavioral ecology and sociobiology*, 68(1), 85-97.
- Pohlman, C. L., Turton, S. M., y Goosem, M. (2007). Edge effects of linear canopy openings on tropical rain forest understory microclimate. *Biotropica*, 39(1), 62-71.
- Preininger, D., Boeckle, M., Freudmann, A., Starnberger, I., Sztatecsny, M., y Hödl, W. (2013). Multimodal signaling in the small torrent frog (*Micrixalus saxicola*) in a complex acoustic environment. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 67(9), 1449-1456.
- Proyecto Córdoba 2025, Resumen Ejecutivo. Desarrollo: Universidad Nacional de Córdoba. Instituto de Investigación de Servicios Públicos e Infraestructura. Cámara Argentina de la Construcción. 46 pp.
- Radford, A. N., Kerridge, E., y Simpson, S. D. (2014). Acoustic communication in a noisy world: can fish compete with anthropogenic noise?. *Behavioral Ecology*, 25(5), 1022-1030.
- Reijnen, R., y Foppen, R. (1995). The effects of car traffic on breeding bird populations in woodland. IV. Influence of population size on the reduction of density close to a highway. *Journal of Applied Ecology*, 481-491.
- Ríos-Chelén, A. A., McDonald, A. N., Berger, A., Perry, A. C., Krakauer, A. H., y Patricelli, G. L. (2017). Do birds vocalize at higher pitch in noise, or is it a matter of measurement?. *Behavioral ecology and sociobiology*, 71(1), 29.
- Rittenhouse, T. A., y Semlitsch, R. D. (2007). Distribution of amphibians in terrestrial habitat surrounding wetlands. *Wetlands*, 27(1), 153-161.
- Röhr, D. L., Paterno, G. B., Camurugi, F., Juncá, F. A., & Garda, A. A. (2016). Background noise as a selective pressure: stream-breeding anurans call at higher frequencies. *Organisms Diversity & Evolution*, 16(1), 269-273.
- Rosenthal, G. G., Stuart-Fox, D., Candolin, U., y Wong, B. B. M. (2012). Environmental disturbance and animal communication. *Behavioural responses to a changing world: mechanisms and consequences*, 16-31.
- Row, J. R., Blouin-Demers, G., y Weatherhead, P. J. (2007). Demographic effects of road mortality in black ratsnakes (*Elaphe obsoleta*). *Biological Conservation*, 137(1), 117-124.

- Rytwinski, T., Soanes, K., Jaeger, J. A., Fahrig, L., Findlay, C. S., Houlahan, J., ... y van der Grift, E. A. (2016). How effective is road mitigation at reducing road-kill? A meta-analysis. *PLoS one*, 11(11), e0166941.
- Schwartz, J. J., y Gerhardt, H. C. (1989). Spatially mediated release from auditory masking in an anuran amphibian. *Journal of Comparative Physiology A*, 166(1), 37-41.
- Shukla, S. P., Yadav, S. K., Lohani, B., Biswas, S., Behra, S. N., Singh, N. B., y Singh, N. K. (2012). Characterization of traffic noise for a typical Indian road crossing. *Current Science*, 1193-1201.
- Sih, A., Stamps, J., Yang, L. H., McElreath, R., y Ramenofsky, M. (2010). Behavior as a key component of integrative biology in a human-altered world. *Integrative and comparative biology*, 50(6), 934-944.
- Simmons, A. M., y Narins, P. M. (2018). Effects of anthropogenic noise on amphibians and reptiles. In *Effects of anthropogenic noise on animals* (pp. 179-208). Springer, New York, NY.
- Slabbekoorn, H. (2004). Habitat-dependent ambient noise: consistent spectral profiles in two African forest types. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 116(6), 3727-3733.
- Stuart, S. N., Chanson, J. S., Cox, N. A., Young, B. E., Rodrigues, A. S., Fischman, D. L., y Waller, R. W. (2004). Status and trends of amphibian declines and extinctions worldwide. *Science*, 306(5702), 1783-1786.
- Sun, J. W., y Narins, P. M. (2005). Anthropogenic sounds differentially affect amphibian call rate. *Biological conservation*, 121(3), 419-427.
- Tennessen, J. B., Parks, S. E., y Langkilde, T. (2014). Traffic noise causes physiological stress and impairs breeding migration behaviour in frogs. *Conservation Physiology*, 2(1).
- Towsey, M., Wimmer, J., Williamson, I., & Roe, P. (2014). The use of acoustic indices to determine avian species richness in audio-recordings of the environment. *Ecological Informatics*, 21, 110-119.
- Tubaro, P. L. (1999). Bioacústica aplicada a la sistemática, conservación y manejo de poblaciones naturales de aves. *Etología*, 7(3), 19-32.
- Vaira, M., Akmentins, M., Attademo, M., Baldo, D., Barrasso, D. A., Barrionuevo, S., ... y Céspedes, J. A. (2012). Categorización del estado de conservación de los anfibios de la República Argentina. *Cuadernos de herpetología*, 26.

- Van Renterghem, T., Botteldooren, D., y Verheyen, K. (2012). Road traffic noise shielding by vegetation belts of limited depth. *Journal of Sound and Vibration*, 331(10), 2404-2425.
- Vargas-Salinas, F., Cunnington, G. M., Amézquita, A., y Fahrig, L. (2014). Does traffic noise alter calling time in frogs and toads? A case study of anurans in Eastern Ontario, Canada. *Urban ecosystems*, 17(4), 945-953.
- Vargas-Salinas, F., y Amézquita, A. (2013). Stream noise, hybridization, and uncoupled evolution of call traits in two lineages of poison frogs: *Oophaga histrionica* and *Oophaga lehmanni*. *PloS one*, 8(10), e77545.
- Vitt, L. J. (2014). *Herpetology: an introductory biology of amphibians and reptiles* (No. 597.9 V5).
- Warren, P. S., Katti, M., Ermann, M., & Brazel, A. (2006). Urban bioacoustics: it's not just noise. *Animal behaviour*, 71(3), 491-502.
- Wells, K. D., y Schwartz, J. J. (2007). The behavioral ecology of anuran communication. In *Hearing and sound communication in amphibians* (pp. 44-86). Springer, New York, NY.
- Wong, S., Parada, H., y Narins, P. M. (2009). Heterospecific acoustic interference: effects on calling in *Oophaga pumilio*. *Biotropica*, 41(1), 74.