A grayscale topographic map of the Basque Country, showing a complex network of rivers and valleys. The map is oriented vertically, with the northern part at the top. The terrain is depicted with varying shades of gray, representing different elevations and landforms. The main river system, the Ebro, is visible in the center, flowing from north to south. Numerous smaller tributaries and streams branch off from the main river, creating a dense network of waterways. The surrounding land is shown with various shades of gray, indicating different elevations and landforms. The overall appearance is that of a detailed topographic map, likely used for geographical or ecological studies.

Estudio comparativo preliminar de la población de ranita meridional (*Hyla meridionalis*, Boettger, 1874) del País Vasco

Preliminary comparative study of the population of stripeless treefrog (*Hyla meridionalis*, Boettger, 1874) from the Basque Country

Xabier EEKHOUT1
Catarina MOREIRA2
Xabier RUBIO3
Jon ETXEZARRETA3
Rafael MÁRQUEZ1

Estudio bioacústico comparativo preliminar de la población de ranita meridional (*Hyla meridionalis*, Boettger, 1874) del País Vasco

Preliminary comparative bioacustical study of the population of stripeless treefrog (*Hyla meridionalis*, Boettger, 1874) from the Basque Country

GAKO HITZAK: Anfibioak, *Hyla meridionalis*, bioakustika, araldiko deia, populazioen arteko aldeak, Euskal Herria.

PALABRAS CLAVE: Anfibios, *Hyla meridionalis*, bioacústica, llamada de apareamiento, diferencias poblacionales, País Vasco.

KEY WORDS: Amphibians, *Hyla meridionalis*, bioacustics, breeding call, population differences, Basque Country.

Xabier EEKHOUT1
Catarina MOREIRA2
Xabier RUBIO3
Jon ETXEZARRETA3
Rafael MÁRQUEZ1

LABURPENA

Mendizorrotzeko (Gipuzkoa) *Hyla meridionalis* espeziearen populazioak duen araldiko deiari atariko azterketa egin zaio eta deia horiek Portalegreko (Portugal) *H. meridionalis*-en populazioekin alderatu dira. Ez zen alde aipagarriarik aurkitu frekuentzia nagusietan, baina bai deien iraupenean zein dei bakoitza osatzen duten pultsu kopuruan. 15°C-tan indibiduo bakoitzaren iraupen balioak eta esperotako pultsu kopurua erregresio zuzen baten bitartez kalkulatu ziren, eta ezberdintasun adierazgarriak aurkitu ziren. Temperatura berdinean, Gipuzkoako *H. meridionalis*-ek, Portugalekoek baino dei motzagoak eta pultsu gutxiagoak erakusten dituzte. Emaitza hori Mendizorrotzeko populazioak bizi duen isolamenduaren ondorioa izan liteke, baina bi populazioen koroak grabatzerakoan erabili ziren metodologia nahiz grabaketa ekipoa oso ezberdinak zirelako ondorioa ere izan liteke. Euskadiko populazioetan inguruneke zarata zela eta, direkzio-mikrofonoren erabilera ezaren ondorioz, kasu batzuetan deien iraupen eta pultsu kopuruaren neurketa zehatzik egitea oso zaila gertatu zen.

SUMMARY

A limited, preliminary sample of the advertisement calls of the relictual population of *Hyla meridionalis* in Mendizorrotz Mountain, (Gipuzkoa, Basque Country, Spain) was studied and compared with the advertisement calls from a population of Portalegre in Portugal. No significant differences were found in call dominant frequency. Call duration and number of pulses per call (corrected by temperatures and calculated at 15°C) were significantly different between populations. The population of Gipuzkoa had shorter calls and less pulses per call at the same air temperature. These results may reflect population differences due to the relictual status of *H. meridionalis* in Gipuzkoa. Although an alternative explanation can be that the results are an artefact due to the fact that the recordings from Euskadi had higher background noise levels due to the characteristics of the recording equipment used and that pulses at the beginning and end of the call, with less amplitude, may be masked by the noise.

RESUMEN

Se ha estudiado de manera preliminar la llamada de apareamiento de *Hyla meridionalis* de la población relicta en torno al monte Mendizorrotz, Gipuzkoa, y se ha comparado con llamadas de *H. meridionalis* de una población de Portalegre, Portugal. No se encontraron diferencias significativas en la frecuencia dominante, pero sí en la duración de las llamadas y en el número de pulsos que componen cada llamada. Mediante una recta de regresión se calcularon los valores de duración y número de pulsos esperados para cada individuo a 15°C, y se encontraron diferencias significativas. Las *H. meridionalis* de Gipuzkoa presentan llamadas más cortas y con menos pulsos que las de Portugal a igual temperatura. Estos resultados se pueden deber a diferencias poblacionales debidas al aislamiento de las del monte Mendizorrotz aunque otra posible explicación puede ser que las diferencias se deban al hecho de que la metodología y equipo de grabación utilizado en la grabación de los coros era distinto en las dos poblaciones. En las poblaciones de Euskadi, al no disponer de un micrófono direccional resultó difícil en algunos casos tomar medidas exactas de duración y número de pulsos debido al ruido de fondo.

1. Fonoteca Zoológica, Dept. Biodiversidad y Biología Evolutiva Museo Nacional de Ciencias Naturales (CSIC), José Gutiérrez Abascal 2, 28006, Madrid
2. Departamento de Biología Animal, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Campo Grande LISBOA
3. Departamento de Vertebrados. S. C. Aranzadi Z. E. Alto de Zorroaga s/n. 20014 SAN SEBASTIÁN

INTRODUCCIÓN

La ranita meridional, *Hyla meridionalis*, Boettger, 1874, es una de las dos especies de la familia *Hylidae* presentes en España. Tiene una distribución muy fragmentada que incluye el noroeste de África, las Islas Canarias, Menorca, Madeira, la Península Ibérica, el Sur de Francia y Noroeste de Italia (TEJEDO & REQUES, 2002). En la península se diferencian dos núcleos principales que se hayan aislados entre si. El primero se ubicaría en el cuadrante suroccidental de la península y el segundo en el extremo nororiental, en Cataluña. Este segundo núcleo se adentraría hasta el sur de Francia y norte de Italia. Además en la Península se encuentra una población aislada en Gipuzkoa. Esta población relictica se encuentra situada en torno al monte Mendizorrotz cuyo cordal se extiende 10 km, discurriendo en paralelo a la costa Cantábrica (ver ETXEZARRETA & RUBIO 1998b). Se diferencian dos núcleos principales de la población: Igara y Berio, con un total de diez piscinas en las que se ha confirmado la presencia de la especie. Estos dos núcleos provienen originalmente un antiguo núcleo único que hace unas décadas habría ocupado la zona de Ibaeta-Igara, pero que se ha reducido debido a las presiones urbanísticas que han destruido parte del hábitat reproductivo de la especie. Debido a esta situación la población podría ser considerada como la más amenazada de España (GARCÍA PARÍS, 1997). Esta crítica situación ha propiciado que se incluyera en el "Catálogo Vasco de Especies Amenazadas de la Fauna y Flora Silvestre y Marina", Decreto 167/1996, de 9 de julio (BOPV Num. 140, de 22.07.96). De hecho la ranita meridional esta considerada como el único anfibio en peligro de extinción de la Comunidad Autónoma Vasca (ETXEZARRETA & RUBIO 1998).

En 1999 la Diputación Foral de Gipuzkoa publicó como Orden foral de 10 de noviembre de 1999 el Plan de Gestión de la ranita meridional en el Boletín Oficial de Gipuzkoa Num. 221, 18 noviembre 1999, pp. 16797-16802 (MÁRQUEZ & LIZANA, 2002). Como parte de un estudio preliminar al Plan de Gestión se llevó a cabo un trabajo para conocer la biología reproductora y el estado de conservación de la población de *H. meridionalis* (ETXEZARRETA & RUBIO 1998b) y durante la toma de datos se realizaron grabaciones de coros. El canto o llamada de apareamiento de *H. meridionalis* ya ha sido descrito anteriormente con individuos del sur de Francia (PAILLETTE, 1969) y se postula que pudo existir contacto entre la población relictica del Medizorrotz y la población

asentada actualmente en el País Vasco francés (Hasparne) y las Landas (PAILLETTE, 1989).

En el presente trabajo se lleva a cabo la comparación de una muestra preliminar de llamadas de *H. meridionalis* de la población de Guipúzcoa (UTM 30TWN79 – 30TWN89) con las llamadas de *H. meridionalis* de Portalegre, Portugal (UTM 29SPD37), perteneciente al núcleo suroccidental de la península. Para ello se han tomado medidas de la frecuencia dominante, la duración de cada llamada y el número de pulsos que la componen.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las grabaciones de *Hyla meridionalis* en Euskadi fueron obtenidas por el tercer y cuarto autor en los meses de mayo y junio de 1998. Utilizando una grabadora Sanyo Modelo 1010 con control de volumen automático y micrófono incorporado, se tomaron muestras de coros de machos. Posteriormente en el laboratorio de la Fonoteca Zoológica del Museo Nacional de Ciencias Naturales las grabaciones fueron digitalizadas en un ordenador Macintosh G4 a 44.1 KHz y 16 bits mediante una tarjeta digitalizadora Delta 66 de M-Audio y utilizando el software Peak 2.6 de Bias Inc. De las grabaciones se aislaron 10 cantos, cada uno perteneciente a un macho, de cada localidad y día cuándo fue posible. En total de esta población se aislaron cantos de 5 localidades, 2 del núcleo de Berio y el resto del de Igara, con una de las localidades del núcleo de Berio repetida en 2 días distintos y otras cuatro grabaciones de cuatro días distintos del embalse de Gurelesa (Igara). De todas las localidades se pudieron aislar cantos de 10 machos distintos, salvo de una de las piscinas del núcleo de Igara en la que debido a la baja densidad del coro esa noche sólo se pudieron aislar 5 cantos para asegurar que no se tomaba más de una llamada de un mismo macho. La temperatura del aire se midió con un termómetro digital marca Hanna Bravo (precisión 0.1°C).

Para el análisis de las llamadas se utilizó el software Signalyze. Se tomaron medidas de la duración de cada llamada, del número de pulsos que la componen y la frecuencia dominante de la misma. La información temporal se midió sobre los oscilogramas y la información de la frecuencia se obtuvo mediante FFT (Fast Fourier Transformation) con una anchura de 1024 puntos. Debido al ruido ambiente presente en las grabaciones (principalmente debido al coro) no se pudo obtener un recuento del número de pulsos en todas las llamadas.

Los cantos de *H. meridionalis* de Portalegre, Portugal, fueron grabados en marzo de 2002 por la segunda autora mediante una grabadora Sony WM-D6C y un micrófono direccional Beyerdynamic CK 707. La temperatura del aire se midió con un termómetro de mercurio (precisión 0.5°C). La digitalización se llevó a cabo con el mismo equipo y con las mismas características que las grabaciones de Euskadi, pero fueron analizadas con el software Cool Edit Pro 2.0. Se midieron de nuevo la duración y el número de pulsos sobre el oscilograma y la frecuencia dominante mediante un FFT con 1024 puntos de anchura.

Para los análisis estadísticos se agruparon todas las llamadas de Euskadi y se compararon la frecuencia dominante, la duración de la llamada y el número de pulsos por llamada con las de Portugal. En *H. meridionalis* se ha estudiado el efecto de la temperatura sobre las características del canto tanto en una población del sur de Francia (Schneider 1968) como de una población de Tenerife (Schneider 1978). Se sabe que la frecuencia dominante no varía con la temperatura del aire, pero sí se ha descrito una regresión lineal negativa entre la temperatura del aire y la duración, y entre la temperatura del aire y el número de pulsos. A mayor temperatura, por tanto, las llamadas son más cortas y están compuestas de un menor número de pulsos, además de disminuir la duración de los intervalos entre llamadas sucesivas. Este efecto de la temperatura sobre las propiedades del canto es general en todas las especies y subespecies de *Hyla* de Europa occidental (Schneider, 1977).

Dada la discrepancia de temperaturas entre las grabaciones de ambas poblaciones, para la com-

paración del número de pulsos y de la duración de la llamada se utilizaron las rectas de regresión definidas por Schneider (1968) para las ranitas meridionales del sur de Francia: "Duración" = $775,34 - 27,52x$ ($x = ^\circ\text{C}$; $n=35$; $r = -0,98$) y "Número de Pulsos" = $54,28 - 0,99x$ ($x = ^\circ\text{C}$; $n=24$; $r = -0,75$). Mediante estas rectas de regresión se pudieron calcular los residuos de cada llamada y ajustar la duración y el número de pulsos esperados a 15°C, la temperatura media de todas las medidas que se habían tomado. Con estos valores de duración y de número de pulsos esperados se llevaron a cabo las comparaciones entre ambas poblaciones. De todas las llamadas analizadas para la población de Gipuzkoa, las de uno de los coros del núcleo de Berio se grabaron sin tomar la temperatura del aire por lo que no se pudieron incluir estas llamadas en las comparaciones de duración y número de pulsos.

RESULTADOS

En la tabla 1 se resumen los datos obtenidos del análisis de las llamadas de las ranitas meridionales de Gipuzkoa y Portalegre. En la figura 1 se representa el audioespectrograma y oscilograma de una llamada de apareamiento tipo de *H. meridionalis* de Portalegre (grabada a temperatura del aire de 12°C) y otra de la población de Gipuzkoa (grabada a temperatura del aire de 17,3°C). Es evidente la menor duración de la llamada de la ranita meridional del Mendizorrotz, así como el menor número de pulsos que la componen.

Para el análisis estadístico de las diferencias entre poblaciones se llevaron a cabo ANOVAs dada la distribución normal de las medidas de duración y número de pulsos (test Shapiro – Wilk;

	N total llamadas	Tª aire (°C)	Frecuencia Dominante (Hz)	Duración (ms)	Duración esperada a 15°C (ms)	N de Pulsos	N pulsos esperados a 15°C
Gipuzkoa	85	15,99 (±1,86) n=85	2198,17 (±316,31) n=85	381,11 (±86,84) n=84	413,70 (±66,89) n=74	37,70 (±5,05) n=57	38,99 (±4,76) n=51
Portalegre	23	11,54 (±0,71) n=23	2246,44 (±167,47) n=23	584,17 (±60,76) n=23	489,05 (±58,99) n=23	46,00 (±5,33) n=23	42,58 (±5,59) n=23
ANOVAs			Z=0,02* p=N.S. n=107		F=23,47 p<0,00 g.l.=96		F=8,03 p<0,00 g.l.=73

Tabla 1. Media, desviación estándar (entre paréntesis) y tamaño muestral de los datos. (*) Test no paramétrico de Kruskal-Wallis dada la distribución no normal de las frecuencias dominantes.

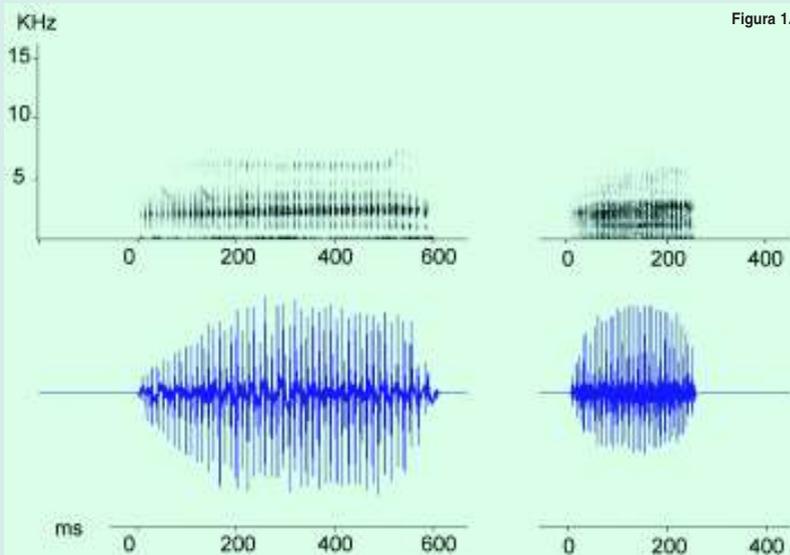


Figura 1.

Figura 1. Audiospectrograma (parte superior) y oscilograma (parte inferior) de una llamada de apareamiento de un macho de *Hyla meridionalis* de Portalegre, Portugal grabado a 12 °C (izquierda) y de un macho de la población de Gipuzkoa grabado a 17,3 °C (derecha), la asimetría horizontal del oscilograma (DC offset) es efecto del equipo de grabación.

Figura 2. Frecuencia dominante (Hz) de las llamadas de individuos pertenecientes a las poblaciones de Portalegre y Gipuzkoa. La línea central del rombo indica la media y los extremos el intervalo de confianza al 95%.

Figura 3. Duración de la llamada corregida mediante recta de regresión a 15°C, de los individuos analizados en Portalegre y Gipuzkoa. La línea central del rombo indica la media y los extremos el intervalo de confianza al 95%.

Figura 4. Número de pulsos por llamada corregidos mediante recta de regresión a 15°C, de los individuos analizados en Portalegre y Gipuzkoa. La línea central del rombo indica la media y los extremos el intervalo de confianza al 95%.

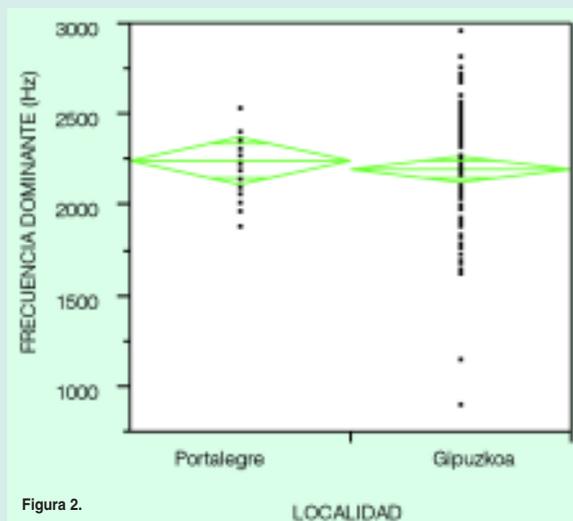


Figura 2.

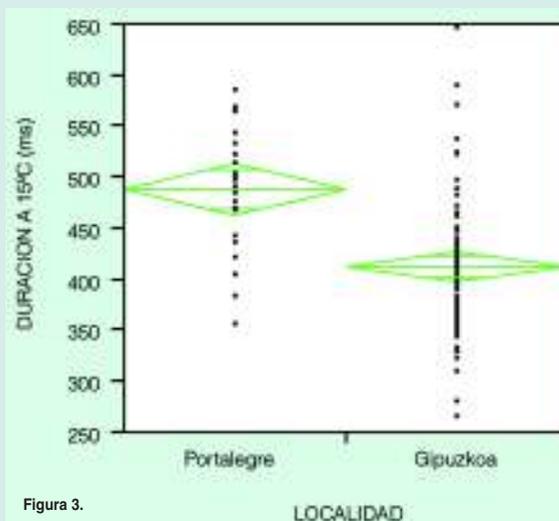


Figura 3.

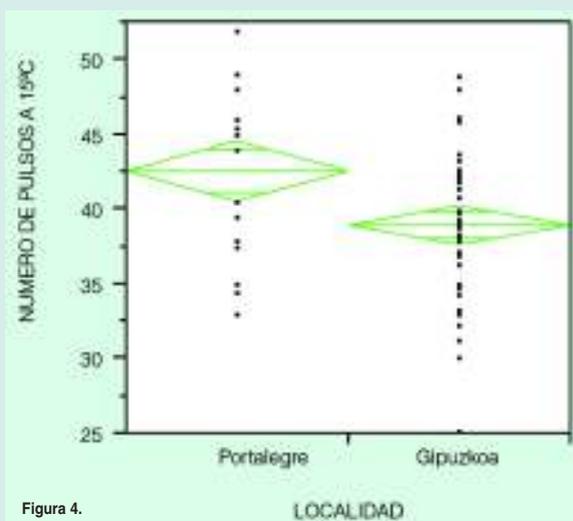


Figura 4.

duración a 15°C $W=0,96$, $p=0,36$, $n=97$; número de pulsos a 15°C $W=0,98$, $p=0,78$, $n=74$). En cuanto a la frecuencia dominante se utilizó un test no-paramétrico de Kruskal-Wallis pues la distribución era significativamente diferente de la normal (test Shapiro – Wilk $W=0,97$, $p=0,02$, $n=108$). No se encontraron diferencias significativas entre las frecuencias dominantes de la población de *H. meridionalis* de Gipuzkoa y la de Portalegre, pero la varianza resultó ser significativamente mayor en la población de Gipuzkoa (test de Levene: $F=13,39$, $p<0,00$, g.l.=106) (figura 2). Por otro lado tras el ajuste de las duraciones y número de pulsos a 15°C sí se obtuvieron diferencias significativas entre ambas poblaciones (figuras 3 & 4). Los resultados de los tests se recogen en la tabla 1.

DISCUSIÓN

En la Península Ibérica la distribución de *H. meridionalis* se divide en dos núcleos (Tejedo & Reques, 2002). La población de Portalegre pertenecería al núcleo suroccidental, mientras que la de Gipuzkoa se halla aislada, aunque se postula que en el pasado debió haber estado en contacto con el núcleo nororiental, que también se extiende por el sur de Francia. Schneider (1978) comparó poblaciones de ranita meridional de el sur de Francia con las, supuestamente introducidas, de la isla de Tenerife y encontró diferencias en la duración y el número de pulsos. En ambas poblaciones las llamadas seguían el mismo sistema en relación a la temperatura del aire: A mayor temperatura disminuían la duración de la llamada, el número de pulsos por llamada y el intervalo entre llamadas sucesivas. Pero aparentemente, a igual rango de temperaturas, la población de Tenerife presentaba una mayor duración y mayores intervalos entre llamadas. Esto fue interpretado por el autor como una adaptación de la ranita meridional de Tenerife a un rango de temperaturas más alto que las que se dan en el sur de Francia.

En este estudio lo que se encontró al calcular la duración y el número de pulsos por llamada a una determinada temperatura (15°C) mediante una regresión lineal, es que las ranitas meridionales de Gipuzkoa se diferenciaban de una población de Portugal significativamente. A igual temperatura las llamadas de apareamiento son más cortas y están compuestas de un menor número de pulsos. Estas diferencias se pueden explicar como variaciones de las llamadas de apareamiento que reflejan diferencias reales entre las líneas evolutivas de las dos poblaciones. Una explicación alternativa sería que las características de la grabaciones de Gipuzkoa, con una relación sonido/ruido muy alta, hayan dificultado la detección de los pulsos de menor intensidad de las llamadas (generalmente en el inicio y en el final de los cantos). Este artefacto podría resultar en medidas de duración más cortas y menor número de pulsos por llamada.

En la frecuencia dominante no se encontraron diferencias significativas. Pero lo que sí se diferenciaba era la varianza, siendo ésta significativamente mayor en la población de Gipuzkoa. En anuros en general se ha encontrado una correlación relativamente buena entre frecuencia dominante y tamaño del cuerpo, tanto en comparaciones interespecíficas como intraespecíficas (revisión en Gerhardt, 1994), por lo que este resultado podría ser indicativo de una mayor homogeneidad

de tamaño entre los machos fonadores de la población de Portalegre. Si bien otra explicación puede ser que el control automático de volumen de la grabadora empleada en este caso, haya facilitado la aparición de armónicas como consecuencia de la saturación de la señal de entrada.

En conjunto los resultados obtenidos apuntan hacia la necesidad de estudiar con mayor profundidad la amenazada población de *H. meridionalis* de Gipuzkoa. Sería deseable llevar a cabo grabaciones utilizando un equipo de grabación apropiado para poder comparar con otras poblaciones de los distintos núcleos principales de distribución de la ranita meridional. También los estudios de preferencias mediante playbacks con hembras de esta población podrían dar resultados relevantes. Estos estudios complementarían los necesarios estudios de variabilidad genética de estas poblaciones relictas.

AGRADECIMIENTOS:

El Departamento de Agricultura y Medio Ambiente de la Diputación Foral de Guipuzkoa subvencionó el estudio durante el que fueron grabados los coros de Guipuzkoa. CM realizó una estancia en la Fonoteca Zoológica del Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN) a través del programa BIOD-IBERIA y RM obtuvo ayudas para desplazamientos a Portugal (Convenio CSIC-ICCTI y Ministerio de Ciencia y Tecnología: Proyecto HP2001-0076). La Fonoteca Zoológica ha sido parcialmente financiada por la Comunidad Autónoma de Madrid (Proyecto 07M/0083/02) y XE disfruta de una beca FPI también de la Comunidad Autónoma de Madrid. Los autores quieren agradecer al Profesor E. G. Crespo y a J. M. Pargana de la Universidad de Lisboa por la indicación de la población de *H. meridionalis* de Portalegre, así como a Margarida Ferreira, Bruno Gomes da Costa y Julio Moreira por la asistencia en el campo durante la grabación de los coros de Portalegre. Por último un agradecimiento muy especial al Profesor Hans Schneider por su donación de bibliografía altamente relevante para este estudio a la Fonoteca.

BIBLIOGRAFÍA

- ETXEZARRETA, J. & RUBIO, X.
1998 *Análisis de la situación de la ranita meridional (Hyla meridionalis) en Mendizorrotz, año 1998*. Sociedad de Ciencias Aranzadi. Departamento de Agricultura y Medio Ambiente. Diputación Foral de Gipuzkoa. Inédito.

- ETXEZARRETA, J. & RUBIO, X.
1998b Notas sobre la biología reproductora y situación actual de la ranita meridional (*Hyla meridionalis*, Boettger, 1874) en el País Vasco. *Munibe*, 50: 77-83.
- GARCÍA PARIS, M.
1997 *Hyla meridionalis* Boettger, 1874. En: GASC, J.P. (Ed.). *Atlas of Reptiles and Amphibians of Europe*. Societas Europaea Herpetologica. París, pp. 126-127.
- GERHARDT, H.C.
1994 The evolution of vocalization in frogs and toads. *Annu. Rev. Ecol. Syst.*, 25: 293-324
- MÁRQUEZ, R. & LIZANA, M.
2002 Conservación de los Anfibios y Reptiles de España. En: PLEGUEZUELOS, J.M., MÁRQUEZ, R. & LIZANA, M. (Eds.) *Atlas y Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España*. Dirección General de Conservación de la Naturaleza – Asociación Herpetológica Española (2ª impresión), Madrid, pp.419-453
- PAILLETTE, M.
1969 Les signaux acoustiques de *Hyla meridionalis*. *C.R. Seanc. Soc. Biol.*, 163: 74-80.
- PAILLETTE, M.
1989 *Hyla meridionalis*. En CASTANET, J. & GUYÉTANT, R. (Coord.). *Atlas de Répartition des Amphibiens et Reptiles de France*. Soc. Herp. France. París, pp. 80-81.
- SCHNEIDER, H.
1968 Bio-akustische Untersuchungen am Mittelmeerlaubfrosch. *Z. vergl. Physiologie*, 61: 369-385
- SCHNEIDER, H.
1977 Acoustic behavior and physiology of vocalization in the european tree frog, *Hyla arborea*, L. En: Taylor, D.H. & Guttman, S.I. (Eds.) *The Reproductive Biology of Amphibians*. Plenum Publishing Corporation, pp. 295-335
- SCHNEIDER, H.
1978 Der Paarungsruf des Teneriffa-Laubfrosches: Struktur, Variabilität und Beziehung zum Paarungsruf des Laubfrosches der Camargue (*Hyla meridionalis* Böettger, 1874, Anura Amphibia)
- TEJEDO, M. & REQUES, R.
2002 *Hyla meridionalis* (Boettger, 1874). En: PLEGUEZUELOS, J.M., MÁRQUEZ, R. & LIZANA, M. (Eds.) *Atlas y Libro Rojo de los Anfibios y Reptiles de España*. Dirección General de Conservación de la Naturaleza – Asociación Herpetológica Española (2ª impresión), Madrid, pp.117-119

Foto: Xabier Rubio



Foto: Xabier Rubio

