



UNIVERSIDAD DE COSTA RICA  
SISTEMA DE ESTUDIOS DE POSGRADO

“INFLUENCIA DE LAS RELACIONES DE PARENTESCO EN LA COMUNICACIÓN  
COOPERATIVA DE *THYROPTERA TRICOLOR* (CHIROPTERA: THYROPTERIDAE)  
EN SITUACIONES DE RIESGO DE DEPREDACIÓN”

Tesis sometida a la consideración de la Comisión del Programa de Estudios de Posgrado en  
Biología para optar al grado y título de Maestría Académica en Biología

ANA MARÍA ÁVILA GARCÍA

Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Costa Rica

2025



## **DEDICATORIA**

A quienes me han ayudado a hacer posible este trabajo, porque en comunidad la cooperación transforma los desafíos en logros compartidos.

## **AGRADECIMIENTO**

Los humanos somos seres sociales, y es justamente la capacidad de cooperar lo que ha permitido muchos de los avances de nuestra especie. En esta tesis he estudiado la cooperación en la naturaleza, pero al mismo tiempo he experimentado su valor en carne propia: cada experimento, cada análisis y cada conclusión llevan la huella de quienes me acompañaron en este camino. Por eso, antes que nada, quiero reconocer a todas las personas que hicieron posible este trabajo.

Quiero comenzar agradeciendo a Danny Zurc y Sergio Solari, pues gracias a ustedes me aventuré a hacer la maestría. Ustedes leyeron aquella convocatoria, pensaron en mí y creyeron en mí antes de que yo misma lo hiciera. También les agradezco porque mi pasión por los murciélagos y la bioacústica comenzó con ustedes.

Agradezco profundamente a mi tutora, Gloriana Chaverri, por compartir sus conocimientos, pero sobre todo por recordarme la importancia de ser un ser humano integral: con pensamiento crítico, curiosidad por los fenómenos naturales y el comportamiento de los seres que nos rodean, sin dejar de lado la humildad y el respeto por toda forma de vida. Por esto y por mucho más, me siento afortunada de haber colaborado en su laboratorio, donde juntos buscamos respuestas sobre la vida.

También quiero agradecerle de todo corazón a José Tinajero, quien siempre estuvo ahí para ayudarme y escucharme. Nos encontramos en esta aventura atraídos por lo mismo, y nos regalamos una amistad muy bonita. Gracias por leerme cuantas veces lo necesité, por cuestionarme cosas incluso cuando yo no quería hacerlo, y por seguirme en mis locuras. Gracias también por toda tu ayuda en el campo para los experimentos del primer capítulo; hacerlo sola habría sido mucho más difícil y aburrido.

Un agradecimiento especial a todos los integrantes del Chaverri's Lab (Silvia Chaves, Mariela Sánchez, Yelanie Jiménez, Deilyn Ulloa, Luisa Gomez, Christian Castillo,

Stanimira Deleva, Paula Iturralde, Luis Vargas (quien me ayudo a revisar los videos del capítulo 1), Gaia (maría) Salvi, Willy Pineda, Andrés Hernández), quienes desde mi primera reunión virtual me recibieron con un sincero ¡PURA VIDA!. Gracias por los momentos compartidos, aunque la mayoría fueran a través de pantallas. También a quienes me acompañaron en el campo recolectando datos para mi tesis o para el proyecto general (María Sagot, Jennifer Stynoski, Cristina Mac Swiney, Eric y Lena de Framond, Nicole Rose, Daniel Espitia).

A Marcelo Araya y Andrey Sequeira, por tomarse el tiempo de leer esta tesis varias veces y aportar sus valiosos comentarios, siempre con mucho respeto. Y a Yimen Araya, por sus consejos que ayudaron a darle forma al capítulo dos.

A mis amigos del alma (Pamela Salazar, Geraldine Buitrago, Mauricio Díaz, Sandra Macías, Alejandra Patiño...) que, aunque nos distanciamos un tiempo por la maestría, nunca dejaron morir nuestra amistad y estuvieron ahí para apoyarme en todo. A mis amigos que conocí en Costa Rica (Katal Chaves, Berenice Benavides, Dani Quintanilla, Natalia Agudelo, Esteban Campos, Angelo Monge, Anyul Arévalo, Benita Copa, Marina Rivera, Chusi Castillo...), que en poco tiempo me hicieron sentir como en casa. Sé que faltan nombres, pero me refiero a todos aquellos que tocaron, cantaron o bailaron conmigo en Toca el Tambo, en Contact Improv o en algún otro lugar, y aunque esto no esté directamente relacionado con la tesis, el bienestar que me brindaron hizo este proceso mucho más enriquecedor.

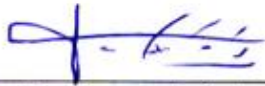
A la Estación Biológica Barú, por enseñarme a adaptarme a los cambios. A pesar de visitar el mismo lugar cada mes durante dos años, siempre encontraba un Barú distinto, y aprendí a valorar esos pequeños detalles que hacen la vida más interesante. Agradezco también a Didier, Ligia, Eduardo y a todo el personal que en algún momento formó parte de la estación y nos brindó el mejor servicio.

A mi familia: a mis padres, Jorge Ávila y Mónica García, por su apoyo y amor incondicional; sin ustedes, nada de esto habría sido posible. También a mis hermanos, Marianita y Jorge Luis, y a mi tía Mariana, a quienes debo gran parte de lo que soy ahora. A mi Flaco favorito, Juan Manuel Sánchez, quien desde el principio me apoyó y, aunque la distancia fue difícil, trabajamos juntos para fortalecer nuestra relación. Gracias por las noches de videollamada, por ayudarme con Python y por recordarme que siempre hay una forma más óptima de hacer las cosas.

Finalmente, me agradezco a mí misma por aprender a escucharme, por aventurarme a otro país a estudiar lo que más amo en esta vida. Al inicio creía que eran los murciélagos, pero en Costa Rica descubrí que realmente fui a estudiarme a mí, mi ser auténtico, algo que no tuve que buscar porque siempre estuvo ahí y siempre estará ahí en constante cambio.

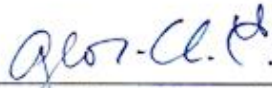
De nuevo gracias a todos ustedes, porque SOY PORQUE SOMOS.

Esta tesis fue aceptada por la Comisión del Programa de Posgrado en Biología de la  
Universidad de Costa Rica, como requisito parcial para optar al grado y título de Maestría  
Académica en Biología



---

Dr. Fernando Soley Guardia  
**Representante del Decano del  
Sistema de Estudios de Posgrado**



---

Dra. Gloriana Chaverri Echandi  
**Directora de Tesis**



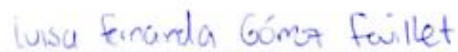
---

Dr. Andrey Sequiera Cordero  
**Asesor**



---

Dr. Marcelo Araya Salas Vega  
**Asesor**



---

M.Sc. Luisa Gómez Feulliet  
**Representante del Director del Programa de Posgrado en Biología**



---

Ana María Ávila García  
**Candidata**

## Índice

RESUMEN .....	ixx
ABSTRACT.....	x
LISTA DE TABLAS .....	xii
LISTA DE FIGURAS.....	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xivv
INTRODUCCIÓN GENERAL .....	1
LITERATURA CITADA .....	3
CAPÍTULO I. Atracción de posibles depredadores mediante los llamados de respuesta de <i>Thyroptera tricolor</i> .....	6
RESUMEN .....	6
INTRODUCCIÓN .....	7
MÉTODOS .....	9
RESULTADOS .....	15
DISCUSIÓN .....	17
LITERATURA CITADA .....	20
CHAPTER 2:.....	27
ABSTRACT: .....	27
INTRODUCTION .....	27
METHODS .....	30
2.1 Study population and experimental subjects .....	30
2.2 Kinship and association indices .....	30
2.3 Experiments and playback design.....	31
2.3.1 Acoustic stimuli and playback assembly .....	31
2.3.2 Acoustic Experiments .....	33
2.4. Call annotation and treatment assignment .....	34

2.5. Statistical analysis.....	34
RESULTS .....	35
DISCUSSION.....	38
SUPPLEMENTARY MATERIALS .....	41
LITERATURE CITED .....	45

## RESUMEN

Las interacciones depredador-presa son de gran importancia para comprender las dinámicas poblacionales y evolutivas de una especie, ya que los depredadores ejercen una fuerte presión selectiva en sus presas, constituyendo una significativa fuente de mortalidad. No obstante, para muchas especies no se tiene conocimiento acerca de cuáles son sus principales depredadores y hay poca información sobre los comportamientos asociados a la evasión de depredadores, limitando la comprensión de las dinámicas ecológicas y sociales que moldean sus estrategias de supervivencia. Esta tesis tiene como objetivo evaluar cómo el riesgo de depredación y las relaciones sociales afectan al comportamiento acústico cooperativo del murciélago de ventosas de Spix (*Thyroptera tricolor*), una especie altamente social que usa un sistema de señales de contacto para mantener la cohesión grupal mientras localiza refugios efímeros. El sistema de llamados de contacto consta de llamados de “consulta” por parte de los murciélagos durante el vuelo. En respuesta a estas señales, los murciélagos dentro del refugio producen llamados de “respuesta”, los cuales contribuyen a la localización más rápida del refugio por parte de los murciélagos en vuelo, pero para el emisor estos llamados son energéticamente costosos y pueden atraer a depredadores que escuchan a escondidas.

En el primer capítulo, se investigó si los llamados de respuesta de *T. tricolor* incrementan la probabilidad de detección del refugio por parte de otros murciélagos, específicamente aquellos que potencialmente pueden depredar esta especie. Para ello, se implementaron experimentos de campo con señuelos acústicos, tales como los llamados respuesta de *T. tricolor*, ruido rosado y llamados de angustia de *Dermanura* spp., dentro de hojas de *Calathea lutea* y se anotaron los eventos de revisión. Evidenciamos que los llamados de angustia de *Dermanura* spp. aumentan significativamente la probabilidad de revisión por parte de otros murciélagos. En contraposición, los llamados de respuesta de *T. tricolor* no tuvieron un efecto significativo. Sin embargo, el amplio intervalo de confianza asociado con este último tratamiento refleja una elevada incertidumbre en la estimación del efecto.

El segundo capítulo analiza si *T. tricolor* modula los llamados de respuesta en función de las relaciones genéticas, sociales y el riesgo de depredación. Se realizaron experimentos de reproducción de sonidos, presentando llamados de consulta provenientes de cuatro categorías sociales: familiares-asociados, no familiares-asociados, no familiares-no asociados y no familiares desconocidos, tanto de forma aislada como combinados con señales de ecolocación de depredadores. Los resultados mostraron que en presencia de señales de depredadores los murciélagos redujeron en un 61% la emisión de llamados de respuesta. Además, en presencia de señales de depredadores, *T. tricolor* pasó de responder indiscriminadamente a un patrón más selectivo, mostrando preferencia por las parejas con las que compartía parentesco y asociación.

## ABSTRACT

The dynamics of predator-prey interactions are important for the comprehension of a species' population and evolutionary dynamics, given the strong selective pressure predators exert on their prey, thereby constituting a substantial source of mortality. However, for many species, their main predators are unknown and there is little information on the behaviours associated with predator avoidance, limiting our understanding of the ecological and social dynamics that shape their survival strategies. The present thesis aims to assess how predation risk and social relationships affect the cooperative acoustic behaviour of the Spix's disc-winged bat (*Thyroptera tricolor*), a highly social species that uses a system of contact signals to maintain group cohesion while locating ephemeral roosts. The contact call system is comprised of "inquiry" calls initiated by the bats during flight. In response to these signals, bats within the roost produce "response" calls, which contribute to faster roost location by bats in flight. However, for the sender, these calls are energetically costly and may attract eavesdropping predators.

The primary chapter of the present study investigated the hypothesis that *T. tricolor* response calls would increase the probability of shelter detection by other bats, specifically those that could potentially prey on this species. To achieve this, field experiments were conducted with the use of acoustic lures, including *T. tricolor* response calls, pink noise and *Dermanura* spp. distress calls, which were played inside *Calathea lutea* leaves. The number of repeat events observed was subsequently scored. We found that *Dermanura* spp. distress calls have been shown to have a significant impact on the probability of revisiting by other bats. Conversely, the response calls of *T. tricolor* exhibited no substantial impact. However, the wide confidence interval associated with the latter treatment reflects high uncertainty in the estimate of effect.

The second chapter of this study employs an analytical approach to investigate the hypothesis that *T. tricolor* modulates its response calls in accordance with genetic and social relationships, as well as predation risk. Sound playback experiments were conducted, presenting query calls from four social categories: kin-associated, non-kin-associated, kin-not associated, and non-kin-not associated, both in isolation and combined with predator echolocation signals. The findings demonstrated that in the presence of predator cues bats exhibited a 61% reduction in the emission of response calls. Furthermore, in the presence of predator signals, *T. tricolor* shifted from responding indiscriminately to a more selective pattern, showing preference for mates with which it shared kinship and association.

## LISTA DE TABLAS

### Chapter 2

Table 1. Structure of the playback sequence used in trials. For replicate 3 the baseline block was suppressed.....	31
Table S1. Summary of posterior estimates from the two fitted models evaluating the effects of kinship, association, risk context, and trial repetition on the number of response calls. The table shows fixed effects (presented as both log-estimates and incidence rate ratios [IRR]), standard errors, and 95% credible intervals. Significant effects (credible intervals not overlapping IRR = 1) are highlighted in bold. Random effects standard deviations are reported for individual identity (bat_id) and playback identity (playlist_id). Distributional parameters for zero inflation (zi_mean) and dispersion (shape_mean) are also included. ...	41
Table S2. Posterior contrasts are presented for the number of response calls in different risk contexts. Estimates are presented on the log scale as incidence rate ratios (IRRs), alongside their corresponding 95% credible intervals. An IRR value greater than 1 indicates a higher number of calls in the first condition of the contrast. ....	43
Table S3. Posterior contrasts between social categories under two risk conditions: Control and Predator. Values are presented as log estimates and incidence rate ratios (IRR), each with 95% credible intervals. Percent changes (%1, %2) indicate the relative change in the first and second categories, respectively. Statistically relevant contrasts (credible intervals excluding 1) are highlighted in bold. C = Control, P = Predator, NK = non-kin, K = kin, A = associated, NA = non-associated.....	43

## LISTA DE FIGURAS

### Capítulo 1.

Figura 1. Mapa de los sitios donde se realizaron los experimentos. El cuadro rojo representa la ubicación de la estación de investigación “La Cherenga”, de la Fundación Universidad de Golfo. .... 10

Figura 2. Esquema del señuelo acústico. Las líneas roja y azul representan los cables que conectan el altavoz con el reproductor (15 m) y el reproductor con el computador, respectivamente. a. Altavoz de banda ancha Ultrasonic Omnidirectional Dynamic Speaker Vifa. b. Hoja en forma de cono de *Calathea lutea*, cubierta con una malla. c. Cámara de video OmniMaster. d. Grabadora de espectro completo Audiomoth. e. Computadora con el software de reproducción y grabación. f. Reproductor Avisoft UltraSoundGate (216H). ... 12

Figura 3. Esquema de las listas de audios de reproducción. Cada color representa un tratamiento; Azul=llamados de respuesta, Rosa=Ruido rosado, Morado= llamados de angustia, Gris= silencio. Cada tratamiento se colocó al azar dentro de la secuencia con excepción de los silencios que se pusieron entre cada tratamiento. a. Lista de 9 minutos de duración. b. Lista de 11 minutos de duración. .... 12

Figura 4. Ejemplo de dos tipos de comportamiento y tamaños registrados en los videos. a. Comportamiento: revisión, Tamaño: pequeño; la flecha señala al murciélago dentro de la circunferencia revisando la entrada del refugio. b. Comportamiento: tránsito, Tamaño: grande; la flecha señala al murciélago pasando por fuera de la circunferencia. .... 15

Figura 5. Número de eventos para cada tratamiento acústico (a) según el comportamiento realizado (b) según el tamaño de los murciélagos que realizaron una revisión en el refugio. .... 16

Figura 6. Efectos de los tratamientos acústicos en la probabilidad de revisión del refugio, expresados como Odds-ratios. Si el intervalo de confianza incluye el valor de 1, indica ausencia de efecto del tratamiento. .... 17

### Chapter 2.

Figure 1. Contrasts of the estimated Incidence Rate Ratio (IRR) under different acoustic risk conditions for the Replicate 1 Model. The points represent the estimated mean, and the bars indicate the 95% credible intervals. The dashed line at IRR = 1 represents the absence of an

effect. The bat illustrations outside the graph indicate the conditions being compared in each contrast, where an IRR greater than 1 suggests a higher emission of response calls in the upper condition compared to the lower one. Illustrated bats represent *T. tricolor* (control), *V. spectrum* (predator), and *R. bickhami* (insectivore).....36

Figure 2. Response call patterns of *Thyroptera tricolor* to social partners under control (left) and predator risk (right) conditions, analysed from Replicate 1 data only. Four social categories are shown: kin-associated (K-A), non-kin associated (NK-A), kin non-associated (K-NA), and non-kin non-associated (NK-NA). Box plots represent medians and interquartile ranges, with individual data points overlaid, with only the data of the first replicate. Violin plots illustrate data distributions. Lines above the box plots represent significant contrasts identified in the Replicate 1 model. ....38

Figure S1. Photograph of the flight cage where the experiments were conducted. The microphone (a) and the speaker (b) were directed towards the entrance of the *Calathea lutea* leaf (c). ....41

## LISTA DE ABREVIATURAS

Chapter/Capítulo	Abbreviation/Abreviatura	Description/Descripción
I	m.s.n.m	metros sobre el nivel del mar
I, II	kHz	Kilohertz / Kilo Hercios
I	m	Meters / Metros
I, II	CI / IC	Confidence Interval / Intervalo de confianza
I	Spp.	Species / Especies
II	dB	Decibels / Decibelio
II	SD / DE	Estándar deviation / Desviación estándar
II	B	Direct benefits / Beneficios Directos
	C	Cost / Costo
II	K / P	Kin / Pariente
II	NK / NP	Non Kin / No pariente
II	A	Associated / Asociado
II	NA	Not Associated / No asociado
II	IRR	Incidence Rate Ratios / Tasa de incidencia
II	ICC	Intraclass correlation coefficients / Coeficientes de correlación intraclase
II	SRI	Simple Ratio Index / Índice de razón simple
II	r	Relatedness / Relación
II	ZINB	zero-inflated negative binomial mixed model / Modelo mixto binomial negativo con inflación en ceros

## INTRODUCCIÓN GENERAL

Los comportamientos cooperativos pueden ejercer una influencia significativa en los patrones de comunicación, contribuyendo a la diversificación y adaptación de las señales acústicas en función de los contextos sociales específicos (Salahshour, 2020). Por ejemplo, en aves se asocia la reproducción cooperativa con un repertorio más extenso de llamadas de contacto, alarma y comida (Leighton, 2017). En los chimpancés salvajes (*Pan troglodytes*), el “lip-smacking” facilita la coordinación y prolonga las interacciones cooperativas durante el acicalamiento social (Fedurek et al., 2015). Así mismo, se ha observado en delfines nariz de botella (*Tursiops truncatus*) que las señales acústicas coordinadas y la sincronía motora apoyan las estrategias basadas en la alianza para coordinar esfuerzos para reproducirse (Moore et al., 2020).

No obstante, la producción de señales vocales para fomentar la cooperación conlleva una serie de costos relacionados con el gasto implícito de vocalizar, pero estos costos pueden variar dependiendo de la especie, el tipo de señales y las condiciones ambientales. Por ejemplo, los grillos machos de *Acheta domesticus* aumentan su tasa metabólica en un 30% cuando producen llamados de apareamiento (Hack, 1998). En *T. truncatus*, se ha observado que el gasto energético asociado a vocalizar puede ser significativo cuando los individuos aumentan la intensidad y duración de sus llamadas en condiciones ruidosas (Holt et al., 2015), mientras que los individuos invierten mucho menos energía en producir vocalizaciones de baja intensidad en condiciones controladas (Pedersen et al., 2019). Además, las vocalizaciones pueden incrementar el riesgo de que el emisor sea detectado por depredadores oportunistas, como es el caso de los centinelas del Charlatán pio meridional (*Turdoides bicolor*) que emiten llamados de vigilancia y tienen más probabilidad de ser atacados por depredadores que los individuos que únicamente forrajean (Ridley et al., 2013).

El murciélago de ventosas de Spix (*Thyroptera tricolor*) es reconocido por su sistema cooperativo de llamadas de contacto, el cual utilizan para encontrar nuevos refugios de forma colectiva. Esta especie se refugia en las hojas en desarrollo del orden Zingiberales, que están disponibles por periodos de 5 a 31 horas (Vonhof & Fenton, 2004). El sistema de comunicación consiste en llamados de “conssaltolta” emitidos por los murciélagos durante

el vuelo y, cuando uno de ellos encuentra un refugio, los individuos dentro de la hoja responden con llamados de “respuesta” (Chaverri, 2010; Chaverri et al., 2013). Esta interacción vocal permite que los murciélagos en vuelo localicen más rápidamente los refugios ocupados (Sagot et al., 2018). No obstante, para el emisor, estos llamados resultan energéticamente costosos, ya que emitir llamadas de respuesta podría aumentar la tasa metabólica del individuo señalador en un 11% (Chaverri et al., 2021). Además, estos llamados podrían aumentar el riesgo de depredación. Se ha observado que *T. tricolor* disminuye los llamados de respuesta cuando escucha llamados de ecolocalización del murciélago espectral *Vampyrum spectrum*, un murciélago carnívoro que se alimenta principalmente de aves, roedores y otros murciélagos (Gamba-Rios et al., 2025). Este patrón sugiere que la emisión de llamados de respuesta por parte de *T. tricolor* puede ser usada por depredadores oportunistas para localizar y depredar a los murciélagos en sus refugios. Por lo tanto, en el primer capítulo de esta tesis se evalúa, mediante un experimento con señuelos acústicos, si los llamados de respuesta de *T. tricolor* incrementan la probabilidad de que otros murciélagos —incluyendo potenciales depredadores— inspeccionen sus refugios.

A pesar de los posibles costos que conlleva vocalizar para cooperar, los comportamientos cooperativos pueden evolucionar cuando los beneficios para los receptores superan los costos para los emisores, especialmente si existe un vínculo de parentesco. De acuerdo con la teoría clásica de selección de parentesco de Hamilton (1964), en condiciones de alto riesgo, los animales tienden a dirigir sus esfuerzos cooperativos hacia individuos genéticamente relacionados, maximizando su aptitud inclusiva. En grupos sociales estables, la cooperación también puede extenderse más allá del parentesco a través de mecanismos como la reciprocidad, donde un individuo ayuda a otro porque espera ayuda recíproca futura (Trivers, 1971). Otros mecanismos, como la reciprocidad indirecta, la selección espacial y la selección multinivel, han ampliado nuestra comprensión de la evolución de la cooperación (Nowak, 2012). Aunque las teorías clásicas sobre cooperación han sido ampliamente exploradas mediante modelos y simulaciones, existen menos estudios empíricos que las corroboren. Esta brecha en la literatura evidencia la necesidad de evaluar estas predicciones en escenarios ecológicos y sociales complejos.

En este sentido, los grupos sociales de *T. tricolor* son un excelente modelo para evaluar empíricamente las predicciones mencionadas anteriormente. Estos grupos se

caracterizan por tener altos niveles de parentesco (Wilkinson et al., 2019), una estructura social estable (Chaverri, 2010) y variabilidad individual en la disposición a cooperar mediante señales vocales (Chaverri et al., 2020). Dados los costos significativos para los individuos vocales y los beneficios acumulados por los miembros del grupo, se esperaría que los murciélagos de ventosas fueran selectivos sobre a quién le van a responder. Sin embargo, estudios previos que utilizaron parejas dentro del grupo no encontraron relación entre las tasas de llamadas y el parentesco o la asociación (Chaverri et al., 2024). Estos hallazgos plantean la pregunta de si *T. tricolor*, bajo condiciones de riesgo, modula su cooperación acústica de manera selectiva según sus relaciones sociales y genéticas. Por ello, en el segundo capítulo de esta tesis se aborda la hipótesis de que, en situaciones de riesgo, donde el costo de vocalizar aumenta, los murciélagos serán más selectivos y tenderán a responder preferencialmente a individuos genéticamente relacionados o con quienes mantienen asociaciones más frecuentes, alineándose así con las predicciones centrales de las teorías de selección de parentesco y reciprocidad. Así, esta investigación aporta evidencia empírica sobre cómo los factores sociales y ecológicos interactúan para moldear la cooperación acústica en animales sociales.

### LITERATURA CITADA

- Chaverri, G. (2010). Comparative social network analysis in a leaf-roosting bat. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 64(10), 1619-1630. <https://doi.org/10.1007/s00265-010-0975-3>
- Chaverri, G., Gillam, E. H., & Kunz, T. H. (2013). A call-and-response system facilitates group cohesion among disc-winged bats. *Behavioral Ecology*, 24(2), 481-487. <https://doi.org/10.1093/beheco/ars188>
- Chaverri, G., Sandoval-Herrera, N. I., Iturralde-Pólit, P., Romero-Vásquez, A., Chaves-Ramírez, S., & Sagot, M. (2021). The energetics of social signaling during roost location in Spix's disc-winged bats. *Journal of Experimental Biology*, 224(14), jeb238279. <https://doi.org/10.1242/jeb.238279>

- Fedurek, P., Slocombe, K. E., Hartel, J. A., & Zuberbühler, K. (2015). Chimpanzee lip-smacking facilitates cooperative behaviour. *Scientific Reports*, 5(1).  
<https://doi.org/10.1038/srep13460>
- Gamba-Rios, M., McCracken, G. F., & Chaverri, G. (2025). Recognition of predator cues hinders social communication. *Biology Letters*, 21(5), 20250042.  
<https://doi.org/10.1098/rsbl.2025.0042>
- Hack, M. A. (1998). The Energetics of Male Mating Strategies in Field Crickets (Orthoptera: Gryllinae: Gryllidae). *Journal of Insect Behavior*, 11(6), 853-867.  
<https://doi.org/10.1023/A:1020864111073>
- Hamilton, W. D. (1964). The genetical evolution of social behaviour. *Journal of Theoretical Biology*, 7(1), 1-16. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(64\)90038-4](https://doi.org/10.1016/0022-5193(64)90038-4)
- Holt, M. M., Noren, D. P., Dunkin, R. C., & Williams, T. M. (2015). Vocal performance affects metabolic rate in dolphins: Implications for animals communicating in noisy environments. *Journal of Experimental Biology*, 218, 1647-1654.  
<https://doi.org/10.1242/jeb.122424>
- Leighton, G. M. (2017). Cooperative breeding influences the number and type of vocalizations in avian lineages. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1868), 20171508. <https://doi.org/10.1098/rspb.2017.1508>
- Moore, B. L., Connor, R. C., Allen, S. J., Krützen, M., & King, S. L. (2020). Acoustic coordination by allied male dolphins in a cooperative context. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 287(1924), 20192944.  
<https://doi.org/10.1098/rspb.2019.2944>
- Pedersen, M. B., Fahlman, A., Borque-Espinosa, A., Madsen, P. T., & Jensen, F. H. (2019). Whistling is metabolically cheap for communicating bottlenose dolphins (*Tursiops*

*truncatus*). *Journal of Experimental Biology*, 223(1).

<https://doi.org/10.1242/jeb.212498>

Ridley, A. R., Nelson-Flower, M. J., & Thompson, A. M. (2013). Is sentinel behaviour safe?

An experimental investigation. *Animal Behaviour*, 85(1), 137-142.

<https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2012.10.017>

Sagot, M., Schöner, C. R., Jago, A. J., Razik, I., & Chaverri, G. (2018). The importance of

group vocal behaviour in roost finding. *Animal Behaviour*, 142, 157-164.

<https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2018.06.018>

Salahshour, M. (2020). Coevolution of cooperation and language. *Physical Review E*, 102(4).

<https://doi.org/10.1103/physreve.102.042409>

Trivers, R. L. (1971). The Evolution of Reciprocal Altruism. *The Quarterly Review of*

*Biology*, 46(1), 35-57. <https://doi.org/10.1086/406755>

Vonhof, M. J., & Fenton, M. B. (2004). Roost availability and population size of *Thyroptera*

*tricolor*, a leaf-roosting bat, in north-eastern Costa Rica. *Journal of Tropical Ecology*,

20(3), 291-305. <https://doi.org/10.1017/s0266467404001403>

## **CAPÍTULO I. Atracción de posibles depredadores mediante los llamados de respuesta de *Thyroptera tricolor***

### **RESUMEN**

Las interacciones entre los depredadores y los murciélagos han sido poco estudiadas, lo que representa un vacío en la comprensión de sus dinámicas de supervivencia. Por ejemplo, se desconoce cuáles son los depredadores de *Thyroptera tricolor*, pero se ha observado que cesa sus llamados de respuesta al escuchar los chillidos de ecolocación de *Vampyrum spectrum*, un potencial depredador. Los llamados de respuesta son llamados de contacto que cumplen un papel importante en la búsqueda de refugio y en la cohesión grupal. Por lo anterior, en este estudio se buscó determinar si los llamados de respuesta aumentan la probabilidad de que el refugio sea revisado por parte de otros murciélagos. Se realizaron experimentos en el campo emitiendo señuelos acústicos (llamados de respuesta de *T. tricolor*, ruido rosado y llamados de angustia de *Dermanura* spp.) dentro de hojas de *Calathea lutea* y se anotaron los eventos de revisión del refugio. El análisis de datos mediante un modelo de regresión lineal, evidencio que los llamados de angustia de *Dermanura* spp. aumentan significativamente la probabilidad de revisión por parte de otros murciélagos, mientras que los llamados de respuesta de *T. tricolor* no tienen un efecto significativo. Sin embargo, el amplio intervalo de confianza asociado con este último tratamiento refleja una alta incertidumbre en la estimación del efecto. En particular, la falta de información sobre la composición de la comunidad de murciélagos carnívoros en el periodo y sitio de muestreo afecta la interpretación de los resultados. Por lo tanto, se recomienda ampliar las localidades y los periodos de muestreo para comprender mejor la respuesta antidepredatoria de *T. tricolor*.

## INTRODUCCIÓN

Los depredadores ejercen una fuerte presión selectiva en sus presas, siendo una importante fuente de mortalidad (Anholt & Werner, 1995); por lo tanto, los rasgos y estrategias que confieren mejor defensa contra los depredadores están sujetos a una fuerte selección natural (Abrams, 2000; Premate et al., 2021). En este contexto, escuchar a escondidas las señales acústicas, tanto de los depredadores como de las presas, es una estrategia fundamental en la carrera armamentista en estas interacciones. Por ejemplo, el cazador puede detectar a sus presas escuchando las señales que esta emite para conseguir pareja o para socializar con sus congéneres, mientras que la presa escucha los sonidos que el depredador produce al acercarse a cazarla, lo que le permite implementar estrategias para evitar ser depredado (Bernal & Page, 2023). Estos ejemplos resaltan el papel de la escucha en procesos críticos para la sobrevivencia, incluyendo la alimentación y evasión de depredadores.

El comportamiento de escuchar a escondidas se ha descrito en murciélagos que escuchan las señales de sus presas (Jones et al., 2011; Page & Ryan, 2005; Rhebergen et al., 2015). A su vez, algunas presas han evolucionado para detectar y evitar las señales de ecolocalización de los murciélagos con el fin de evitar ser cazadas. Esto se ha observado tanto en invertebrados (Acharya, 1998; Faure & Hoy, 2000; Greenfield & Baker, 2003; Holderied et al., 2018; Spangler, 1984; Yack et al., 2020), como en vertebrados (Bernal et al., 2007; Dapper et al., 2011; Page & Ryan, 2005; Rhebergen et al., 2015). En cuanto a la respuesta de los murciélagos ante depredadores, Baxter et al. (2006) observaron que la actividad de forrajeo de los murciélagos disminuye en respuesta a las llamadas de búhos (depredadores potenciales de murciélagos). No obstante, los autores sugieren que esta reducción podría atribuirse a una evitación por el ruido en general más que a una respuesta antidepredatoria. Por otro lado, en un experimento con *Eptesicus fuscus*, Boyles & Storm, (2007) encontraron que los murciélagos no evitan las señales químicas de depredadores, pero tienden a evitar el área cuando el depredador está presente y emite señales auditivas. Finalmente, se ha observado que *Dermanura watsoni* utiliza señales auditivas como primer filtro para evaluar el riesgo de depredación y, ante un incremento en el riesgo, recurren a

señales visuales y físicas para decidir si se aleja del área (Gamba-Rios, 2019). En conjunto, estos estudios sugieren que las respuestas de los murciélagos ante depredadores no son uniformes y pueden depender tanto de la naturaleza de las señales percibidas como de las características ecológicas y conductuales de cada especie.

Los murciélagos de ventosas de Spix (*Thyroptera tricolor*) dejan de emitir llamados de respuesta al escuchar llamados de ecolocación de *Vampyrum spectrum*, un posible depredador (Gamba-Rios, 2019). Los llamados de respuesta forman parte de las señales cooperativas que usan estos murciélagos para encontrar refugios ocupados por miembros de su grupo y así mantienen la cohesión grupal. Estas señales cooperativas están compuestas por llamados de “consulta” que son emitidas por individuos durante el vuelo, las cuales inducen la emisión de llamados de “respuesta” de los individuos que se encuentran dentro del refugio (Chaverri et al., 2010). Mientras está volando, *T. tricolor* puede discriminar entre los llamados de consulta y de respuesta de individuos del mismo grupo (Chaverri et al., 2013). Debido a lo anterior, dejar de emitir llamados de respuesta puede afectar la cohesión del grupo.

Los estudios publicados de depredación para algunas especies de murciélagos representan anécdotas aisladas (Alencastre-Santos et al., 2022; Amal et al., 2022; Mikula, 2015; Mikula et al., 2013; Noronha et al., 2015; Silva et al., 2022; Szczygieł & Page, 2020; Tapanes et al., 2016) y son pocos los datos sobre depredación en murciélagos que se han colectado de manera sistemática (Borkin et al., 2022; Mikula et al., 2013). Por este motivo, aún no se sabe cuáles son los depredadores para muchas especies de murciélagos, incluyendo *Thyroptera tricolor*. Al ser un murciélago insectívoro pequeño (4g) que se refugia en hojas enrolladas de las plantas del orden Zingiberales que son altamente efímeras (Chaverri et al., 2010), se cree que estos pueden ser vulnerables a los monos capuchinos (*Cebus capuchinus*), que aunque se alimentan principalmente de frutas e insectos (Gomez Romero, 2020), se les ha visto comer lagartijas, aves y mamíferos pequeños (Rodríguez-Matamoros et al., 2012). Además, *T. tricolor* podría ser presa de otros murciélagos carnívoros (Gual-Suárez & Medellín, 2021). Esta hipótesis se refuerza por la evidencia de que *T. tricolor* cesa los llamados de respuesta al escuchar a *V. spectrum* (Gamba-Rios, 2019), un murciélago carnívoro que se alimenta principalmente de aves, roedores y otros murciélagos. Aunque aún no está claro cómo *V. spectrum* caza a otros murciélagos (Martínez-Fonseca et al., 2022), es

posible que escuche a escondidas llamados de sus presas, así como lo hace *Trachops cirrhosus* (Tuttle & Ryan, 1981) que incluye a murciélagos y otros vertebrados pequeños en su dieta (Arias et al., 2015).

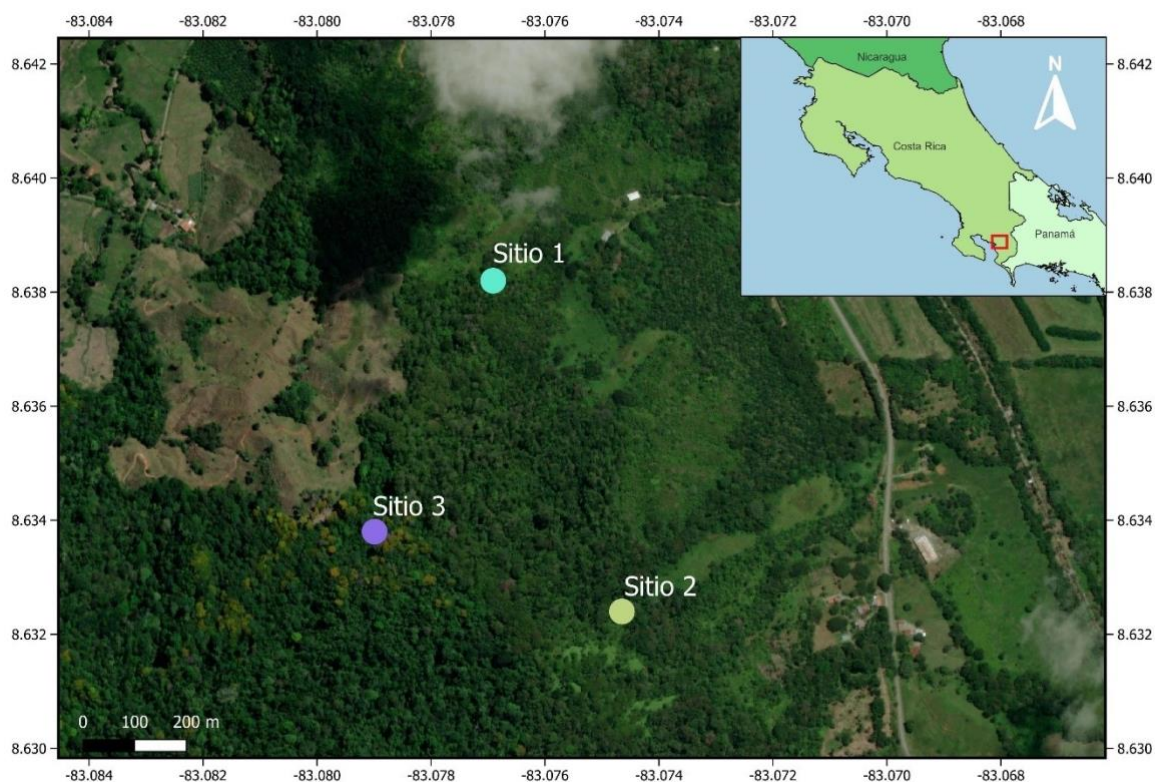
Con base en la evidencia presentada, se hipotetiza que los llamados de respuesta de *T. tricolor* aumentan la probabilidad de ser detectados por depredadores. Además, algunos estudios sugieren que ciertos llamados sociales, como los de angustia, pueden atraer a murciélagos conespecíficos o de otras especies (Carter et al., 2015; Russ et al., 2004; Wu et al., 2019) aunque esto no se ha descrito aun para los llamados de respuesta de *T. tricolor*. Por lo tanto, en el presente estudio también se buscó explorar la relación entre la emisión de llamados de respuesta de *T. tricolor* y la probabilidad de que otros murciélagos se acerquen a visitar su refugio.

## MÉTODOS

Este estudio se llevó a cabo en la estación de investigación “La Cherenga”, de la Fundación Universidad de Golfito, ubicado en el Pacífico sur de Costa Rica, en Golfito, Puntarenas, a 30 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m). La estación cuenta con 56 hectáreas, y según el sistema de zonas de vida de Holdridge, esta área se encuentra en la región de Bosque Húmedo Tropical (Holdridge, 1978). Se seleccionaron tres sitios de muestreo separados por al menos 500 metros entre sí (Figura 1). Debido a esta proximidad, los sitios no se consideran completamente independientes, pero se utilizaron para capturar variabilidad espacial dentro del área de muestreo. Para elegir los puntos, se consideró la presencia de plantas del orden Zingiberales y que fueran parches potencialmente habitados por grupos de *T. tricolor*. Además, se tuvo en cuenta el estado de conservación del bosque, seleccionando sitios ubicados en áreas de bosque maduro con un dosel alto. Estas características de hábitat han sido consideradas previamente como espacios de caza y descanso preferibles por *V. spectrum* (Martínez-Fonseca et al., 2022). Debido a la accesibilidad del terreno, los sitios se ubicaron cerca de senderos naturales dentro de la estación de investigación.

Los experimentos se realizaron del 3 al 11 de abril de 2024, al final de la temporada seca, para evitar interrupciones por la lluvia, ya que se trabajó con equipos electrónicos que no son resistentes al agua. El 2 de abril se realizó un recorrido por todo el sendero y con un GPS (modelo: GPSMAP64s, marca: GARMIN) se marcaron los sitios donde potencialmente

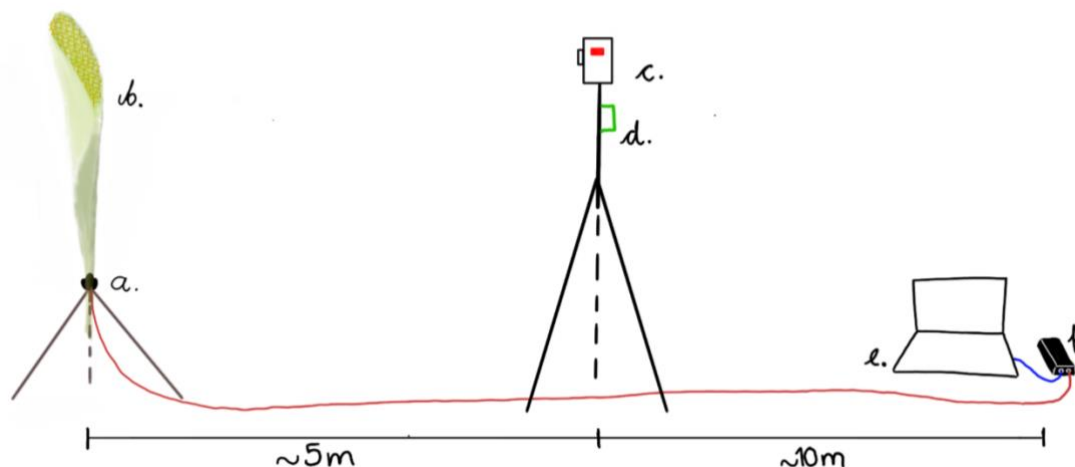
se podían hacer los experimentos. Posteriormente, se seleccionaron los tres sitios más alejados entre sí. Una vez seleccionados los puntos, se procedió a colocar el señuelo acústico en la noche. El experimento se llevó a cabo durante nueve noches consecutivas en los tres sitios; cada noche se ubicó el señuelo y las cámaras en uno de los sitios, y cada sitio se repitió tres veces. El señuelo se colocó entre las 20:00 y las 23:00 horas, ya que son las horas en las que *V. spectrum* suele buscar alimento (Martínez-Fonseca et al., 2022).



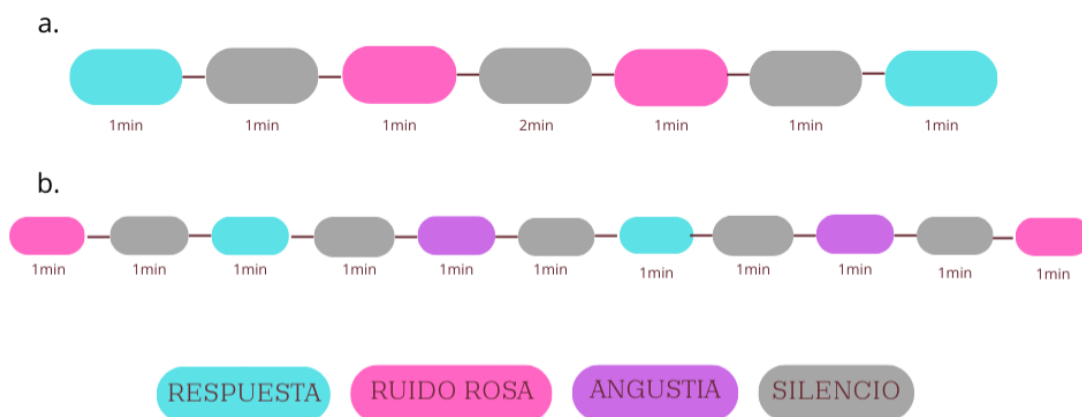
**Figura 1.** Mapa de los sitios donde se realizaron los experimentos. El cuadro rojo representa la ubicación de la estación de investigación “La Cherenga”, de la Fundación Universidad de Golfito.

Para reproducir los señuelos acústicos se usó un reproductor Avisoft UltraSoundGate (216H) conectado a un altavoz de banda ancha (Ultrasonic Omnidirectional Dynamic Speaker Vifa; Avisoft Bioacoustics, Berlín, Alemania). Aunque este equipo viene con una carcasa de aluminio resistente, esta fue removida para poder ubicarlo dentro del cono. El parlante se ubicó dentro de una hoja de *Calathea lutea*, enrollada en forma tubular y con una malla para evitar la entrada de otros individuos de *T. tricolor* (figura 2a y b). Además, se

instaló una cámara de video Omnimaster (figura 2c) a aproximadamente cinco metros del reproductor, con el objetivo de grabar si algún murciélago se acercaba a inspeccionar la hoja que estaba reproduciendo el señuelo. La cámara se configuró para que tomara videos con luz infrarroja cada 10 min. En el mismo trípode, se colocó un Audiomoth para grabar los llamados de ecolocación de los murciélagos que se aproximaban (figura 2d), configurado con una tasa de muestreo de 384 kHz (la tasa máxima del equipo) y una ganancia media-alta. El grabador se utilizó en modo “CUSTOM” para que grabara en los periodos de tiempo que estaban sonando los señuelos. El computador conectado al reproductor estaba ubicado a 15 metros del parlante (largo total del cable) (Figura 2). Primero se usaron listas de audios de nueve minutos de duración que fueron reproducidos cada 11 min. Las listas estaban compuestas por llamados de respuesta de diferentes individuos, ruido rosado y silencio (Figura 3a). Considerando que los llamados de angustia pueden atraer a otros murciélagos, incluyendo potencialmente a *V. spectrum* (Carter et al., 2015; IUCN, 2018), se decidió añadir un control positivo usando llamados de angustia de *Dermanura* spp. Por lo tanto, se generó una segunda lista de 11 min que se reprodujo cada nueve minutos (figura 3b). Las listas de reproducción se iniciaron manualmente por el investigador y cada vez que se iniciaba una prueba se aplaudía para marcar el comienzo y facilitar la identificación del momento en que ocurría algún evento de interés en los diferentes tratamientos.



**Figura 2.** Esquema del señuelo acústico. Las líneas roja y azul representan los cables que conectan el altavoz con el reproductor (15 m) y el reproductor con el computador, respectivamente. a. Altavoz de banda ancha Ultrasonic Omnidireccional Dynamic Speaker Vifa. b. Hoja en forma de cono de *Calathea lutea*, cubierta con una malla. c. Cámara de video OmniMaster. d. Grabadora de espectro completo Audiomoth. e. Computadora con el software de reproducción y grabación. f. Reproductor Avisoft UltraSoundGate (216H).



**Figura 3.** Esquema de las listas de audios de reproducción. Cada color representa un tratamiento; Azul=llamados de respuesta, Rosa=Ruido rosado, Morado= llamados de angustia, Gris= silencio. Cada tratamiento se colocó al azar dentro de la secuencia con excepción de los silencios que se pusieron entre cada tratamiento. a. Lista de 9 minutos de duración. b. Lista de 11 minutos de duración.

Los videos de cada prueba se revisaron manualmente en el programa para videos VLC (v3.5.6 ) a una velocidad normal (1.00x) y cuando se observó algún evento se revisaron en Boris (v. 8.27.7 2024-08-23) (Friard & Gamba, 2016) para disminuir la velocidad del video a 0.10x y poder hacer las anotaciones. Se anotó la hora específica del evento (hh:mm:ss) y el comportamiento observado. Para esto se definieron dos comportamientos: tránsito y revisión. La pantalla del monitor se dividió en dos zonas mediante una circunferencia centrada en la apertura de la hoja, con un radio de 2cm para mantener las observaciones estandarizadas. Los eventos que ocurrieran dentro de esta circunferencia se clasificaron como revisión, una variable indicadora de que el murciélago mostraba interés por el sonido o el objeto (figura 4a). Los eventos en los que el murciélago pasó por dentro de la circunferencia, pero de manera rápida (dura menos de 0.5 s dentro de la circunferencia) y sin mostrar algún interés en la hoja, se clasificaron como tránsito. Igualmente, los eventos que ocurrieron fuera de esta circunferencia se consideraron tránsito, es decir, el murciélago pasó sin aparente interés en el sonido o el refugio (figura 4b). También se anotó el tamaño de los murciélagos; este se tomó en relación con la hoja y con referencia al murciélago de ventosas. Los murciélagos que tenían un tamaño parecido al de un *T. tricolor* o se veían pequeños con relación a la apertura de la hoja, se anotaron como “pequeños” y los murciélagos que se veían más grandes que la apertura de la hoja se anotaron como “grandes”. Adicionalmente, se revisaron los audios registrados por el Audiomoth en los momentos que ocurrieron eventos de interés para buscar llamados de ecolocación y tener una aproximación a la identificación del murciélago del evento.

Los eventos de interés fueron revisados por dos expertos quiropterólogos y, en aquellos eventos donde las anotaciones no coincidían entre los dos revisores, se pidió una tercera opinión a más personas expertas en el tema, para llegar a un consenso. Las detecciones fueron depositadas en una carpeta pública de drive, donde puedan ser revisadas por terceros ([Ver aquí](#)). Una vez determinado el comportamiento y la clasificación del tamaño de los murciélagos se asignó el tratamiento que estaba sonando en ese momento.

a.



b.

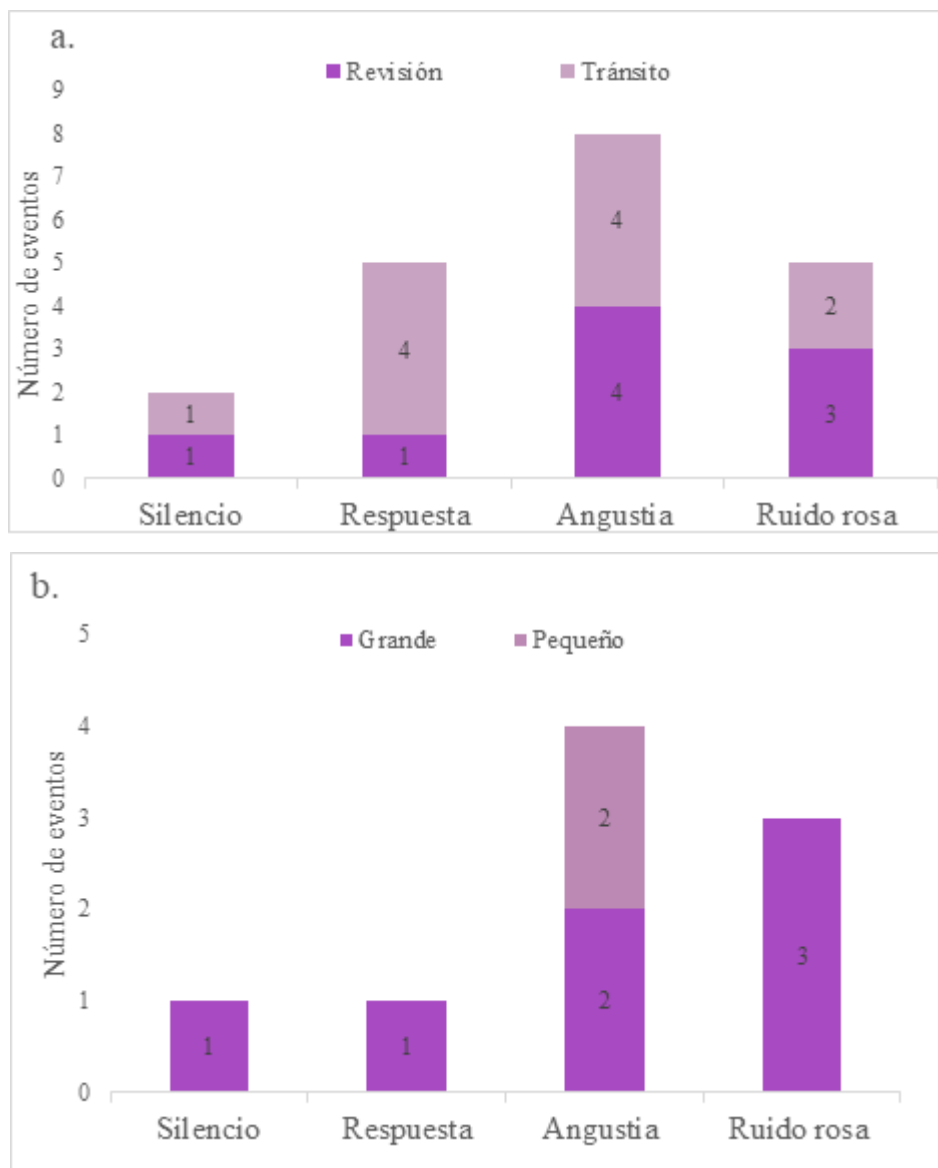


**Figura 4.** Ejemplo de dos tipos de comportamiento y tamaños registrados en los videos. a. Comportamiento: revisión, Tamaño: pequeño; la flecha señala al murciélago dentro de la circunferencia revisando la entrada del refugio. b. Comportamiento: tránsito, Tamaño: grande; la flecha señala al murciélago pasando por fuera de la circunferencia.

Se ajustó un modelo de regresión logística, utilizando el enfoque bayesiano con el software Stan (Stan Development Team 2021) a través del paquete brms (Bürkner, 2017) en R. La variable de respuesta fue binaria, indicando si hubo (1) o no (0) revisión del señuelo. Para este modelo, se utilizó una distribución Bernoulli con enlace logit (Bürkner, 2017; Carpenter et al., 2017). Además, se incluyó un efecto aleatorio correspondiente a un identificador único para cada experimento, que incluye la información combinada del sitio, noche y lista de reproducción, abarcando los tres sitios, nueve noches y las 54 listas de reproducción. El modelo se ajustó utilizando el algoritmo de muestreo Hamiltoniano No-Utópico (NUTS), con un control de  $\text{adapt\_delta} = 0.99$  y  $\text{max\_treedepth} = 15$ , para mejorar la convergencia. A partir de los eventos donde hubo revisión se hizo un modelo de regresión donde la variable respuesta también fue binaria, siendo 1 los murciélagos grandes y 0 los murciélagos pequeños. Para ambos modelos la variable explicativa es el tratamiento que estaba sonando en el momento.

## RESULTADOS

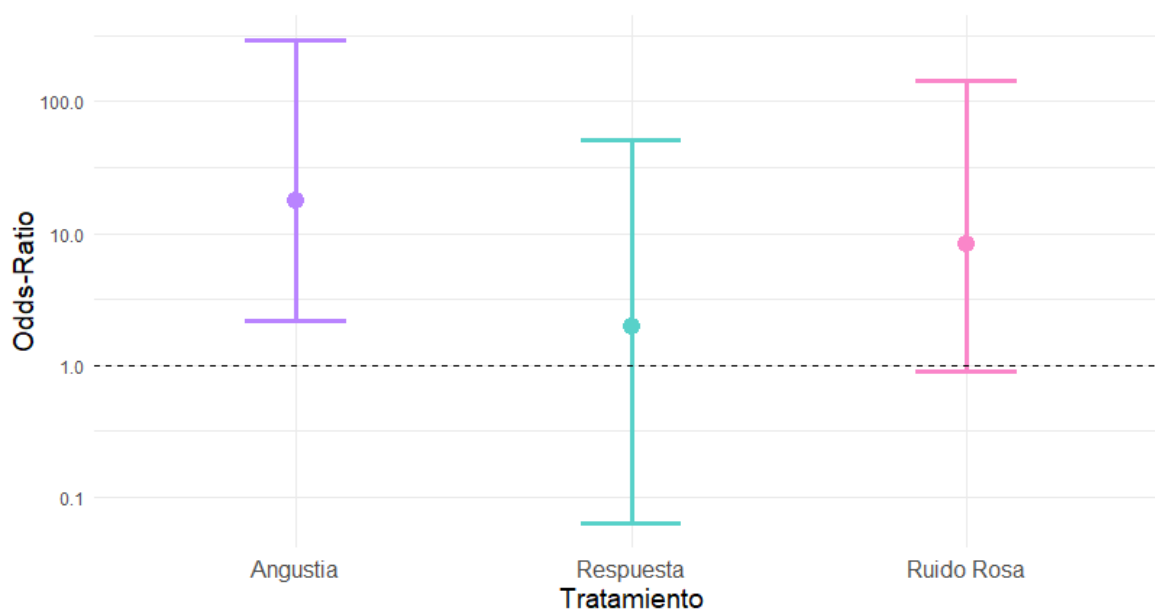
Se registraron 20 eventos de interés en 18 videos correspondientes a 14 listas de reproducción. De estos, en nueve eventos se observaron comportamientos de revisión, en 11 solo se detectó tránsito (figura 5a). No se observaron acercamientos de animales diferentes a murciélagos. De los murciélagos que revisaron el refugio (nueve), siete fueron clasificados como grandes y dos como pequeños (figura 5b).



**Figura 5.** Número de eventos para cada tratamiento acústico (a) según el comportamiento realizado (b) según el tamaño de los murciélagos que realizaron una revisión en el refugio.

Los llamados de angustia tuvieron un efecto positivo y significativo sobre la probabilidad de que el refugio fuera revisado por un murciélago (Odds ratio= 17.72, IC95%: 2.19–294.80). En contraste, los llamados de respuesta (Odds ratio= 1.95, IC95%: 0.06–51.12) y el ruido rosado (Odds ratio = 8.26, IC95%: 0.9–144.41) no tuvieron un efecto significativo sobre la probabilidad de que el refugio fuera revisado por un murciélago. No obstante, todos los tratamientos presentaron intervalos de confianza muy amplios, lo cual indica una alta incertidumbre en las estimaciones. En particular, el intervalo para el ruido

rosa se encuentra muy cercano al umbral de significancia (límite inferior del IC cercano a 1), lo que sugiere que no puede descartarse del todo un posible efecto. Esta incertidumbre probablemente se relaciona con el tamaño reducido de muestra, lo que limita la precisión y el poder del modelo para detectar diferencias claras entre tratamientos (figura 6).



**Figura 6.** Efectos de los tratamientos acústicos en la probabilidad de revisión del refugio, expresados como Odds-ratios. Si el intervalo de confianza incluye el valor de 1, indica ausencia de efecto del tratamiento.

El tamaño de los murciélagos que revisaron las hojas no fue analizado mediante un modelo de regresión debido al tamaño reducido de la muestra lo cual generó problemas de convergencia del modelo. Sin embargo, como se observa en la figura 5b, el tamaño del murciélago que se acercó a revisar el refugio cuando sonó el tratamiento de llamados de respuesta fue grande, por lo cual podemos descartar que sea un *T. tricolor* intentando entrar al refugio. Por otro lado, cuando sonaron los llamados de angustia, se observaron tanto murciélagos grandes como pequeños (figura 5b).

## DISCUSIÓN

Los resultados refutan la hipótesis de que los llamados de respuesta de *T. tricolor* aumentan la probabilidad de que el refugio sea revisado por otros murciélagos. Aunque se

observaron algunos eventos de revisión y/o de tránsitos en presencia de los llamados de respuesta, el tratamiento tiene un odds ratio centrado en 1, interpretado como ausencia de un efecto claro, y no mostró un efecto significativamente mayor en la revisión de los refugios en comparación con los controles (silencio o el ruido rosa). No obstante, el intervalo de confianza amplio para los tres efectos fijos indica una alta incertidumbre, probablemente atribuible al número reducido del tamaño de muestra, lo que afecta la precisión de las estimaciones del modelo.

Chaverri y Gilliam (2013) sugieren que las llamadas de respuesta de *T. tricolor* por ser sonidos de alta frecuencia y en ocasiones de alta intensidad, pueden hacer que la ubicación de los murciélagos dentro de los refugios permanezca oculta para los depredadores cuyos oídos no captan las frecuencias altas, como por ejemplo para los halcones, búhos y águilas que tienen rangos auditivos limitados a frecuencias bajas y medias. Sin embargo, otros potenciales depredadores, como perros o gatos domésticos, coyotes o murciélagos carnívoros, tienen un rango de audición más alto (Arch & Narins, 2008), lo que podría permitirles escuchar los llamados sociales de *T. tricolor*. Aunque algunos depredadores son sensibles a las altas frecuencias, la corta distancia de transmisión y dirección limitada de los sonidos ultrasónicos (Griffin, 1971), los hacen efectivos para minimizar la detección por parte de estos depredadores. Comparativamente, los llamados de angustia de *Dermanura* spp. tienen frecuencias más bajas (promedio de frecuencia pico 10,7 kHz, DE = 16,8, n = 11) que los llamados de respuesta (promedio de frecuencia pico 69,2 kHz, DE= 7,9, n =16). Estas frecuencias más bajas les permitirían transmitirse a mayores distancias y, potencialmente, ser escuchados por un rango más amplio de depredadores. Por esta razón, se refuerza la idea de que los llamados de respuesta de *T. tricolor* están dirigidos principalmente para la comunicación entre miembros del grupo que vuelan cerca del refugio, asegurando que solo los compañeros del grupo los escuchen.

No obstante, *T. tricolor* disminuye los llamados de respuesta cuando escucha las señales de ecolocación de *V. spectrum* (Gamba-Rios, 2019), un comportamiento que podría deberse a la asociación de estas señales con eventos previos de depredación. Aun no hay certeza sobre las estrategias de caza de *V. spectrum*, pero se sabe que los murciélagos carnívoros utilizan principalmente señales auditivas para localizar a sus presas, detectando

sonidos emitidos por estas, como movimientos o vocalizaciones, lo que ha sido documentado en especies como *Chrotopterus auritus*, *Macroderma gigas* y *Trachops chirrosus* (Gual-Suárez & Medellín, 2021; Page & Ryan, 2005). La audición, combinada con la visión en condiciones de poca luz, parece ser fundamental para la caza en vuelo o desde perchas cercanas. Sin embargo, en refugios donde las señales acústicas y visuales pueden ser menos efectivas debido a la densidad del entorno o la falta de movimiento de las presas, es posible que el olfato adquiriera un papel más importante. Vehrencamp et al. (1977) sugieren que el olfato puede ser útil en la caza de presas en refugios, y se plantea la hipótesis de que *V. spectrum* podría recurrir a esta estrategia como complemento en contextos donde las señales auditivas o visuales no sean suficientes para localizar a sus presas.

La identificación precisa de los murciélagos observados durante los eventos de interés fue limitada tanto por la falta de nitidez en las imágenes de los videos como por la dificultad de clasificar señales de ecolocación captadas durante los experimentos. Incluso con imágenes de mayor calidad, la identificación taxonómica es complicada en ausencia de caracteres distintivos evidentes, lo que dificultó determinar el género de los murciélagos o clasificarlos a un gremio alimenticio. Las señales de ecolocación detectadas en los eventos de revisión tampoco pudieron asignarse a nivel de género o especie, ya que correspondían a murciélagos de la familia *Phyllostomidae*, conocidos por emitir señales de baja intensidad que son difíciles de identificar con precisión (Yoh et al., 2020). Ante estas limitaciones, se decidió trabajar únicamente con categorías de tamaño (grande y pequeño) en lugar de intentar una identificación taxonómica o asignar un riesgo específico. En los casos donde se observaron murciélagos pequeños, no puede descartarse la posibilidad de que el murciélago que revise la hoja sea *T. tricolor*. Sin embargo, no se encontraron llamados sociales ni de ecolocación propios de esta especie en las grabaciones y estos eventos únicamente ocurrieron durante la reproducción de llamados de angustia de *Dermanura* spp., un género presente en la zona con especies cuyo tamaño se solapa con el de *T. tricolor*. Esto plantea la posibilidad de que los llamados hayan atraído a murciélagos conspecíficos, lo que complica su interpretación como interacciones asociadas exclusivamente a riesgo. Por otro lado, los murciélagos grandes podrían representar un riesgo potencial para *T. tricolor*, pero es posible que correspondan a especies frugívoras de la subfamilia *Stenodermatinae*, como *Artibeus*, cuyo tamaño se solapa

con el de murciélagos carnívoros de la subfamilia *Phyllostominae*, como los géneros *Trachops* spp. o *Phyllostomus* spp. Esta superposición en el tamaño entre especies carnívoras y frugívoras hace que la identificación del riesgo potencial sea poco confiable. Finalmente, no se detectaron murciélagos de un tamaño comparable con *V. spectrum*, confirmando su ausencia durante los experimentos.

En un estudio previo realizado en la estación de investigación “La Cherenga”, se capturaron 215 murciélagos pertenecientes a 24 especies de diferentes gremios alimenticios, incluidos insectívoros, frugívoros y nectarívoros, pero no se registraron murciélagos carnívoros u omnívoros (Chaves-Ramírez et al., 2021). Por la distribución geográfica de especies como *V. spectrum* y *T. chirrosus* (IUCN, 2015, 2018), se esperaba que estas pudieran estar presentes en el área de estudio; sin embargo, hasta el momento no se han capturado en esta localidad. La falta de confirmación directa de la presencia de *V. spectrum* u otros murciélagos carnívoros en el sitio de estudio y en el periodo de muestreo limita las conclusiones sobre la interacción depredador-presa de *T. tricolor* porque, sin saber si los murciélagos carnívoros están presentes, no es posible evaluar si estos podrían verse atraídos por los llamados de respuesta. Esta limitación, sumada al tamaño reducido del muestreo que afecta la robustez estadística de los modelos, resalta la necesidad de realizar muestreos más amplios que se lleven a cabo en áreas donde la presencia de *V. spectrum* u otras especies carnívoras como *T. chirrosus* y la especie focal *T. tricolor* este confirmada, lo que permitiría obtener datos más robustos para comprender mejor estas interacciones ecológicas.

#### LITERATURA CITADA

- Abrams, P. A. (2000). The evolution of predator-prey interactions: Theory and evidence. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31(1), 79-105. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.31.1.79>
- Acharya, L. (1998). Predation risk and mating behavior: The responses of moths to bat-like ultrasound. *Behavioral Ecology*, 9(6), 552-558. <https://doi.org/10.1093/beheco/9.6.552>

- Alencastre-Santos, A. B., Correia, L. L., Sousa, L. M., Silva, C. R., & Vieira, T. B. (2022). Opportunistic predation of *Carollia brevicauda* (Schinz, 1821) (Chiroptera: Phyllostomidae) by *Marmosa demerarae* (Thomas, 1905) (Marsupialia: Didelphidae) in the Brazilian Amazon. *Mammalia*, 86(4), 347-350. <https://doi.org/10.1515/mammalia-2021-0083>
- Amal, U. S., Raman, S., & Hughes, A. C. (2022). First record of predation of a fruit bat by the Malabar Grey Hornbill (*Ocyrceros griseus*) from southern Western Ghats, India. *The Wilson Journal of Ornithology*, 133(4), 621-622. <https://doi.org/10.1676/19-00072>
- Anholt, B. R., & Werner, E. E. (1995). Interaction between food availability and predation mortality mediated by adaptive behavior. *Ecology*, 76(7), 2230-2234. <https://doi.org/10.2307/1941696>
- Arch, V. S., & Narins, P. M. (2008). 'Silent' signals: Selective forces acting on ultrasonic communication systems in terrestrial vertebrates. *Animal Behaviour*, 76(4), 1423-1428. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2008.05.012>
- Arias, V., Villalobos, F., & Mora, J. M. (2015). Cría de murciélago en la dieta de *Trachops cirrhosus* (Chiroptera: Phyllostomidae) en Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 47(4), 1137-1138. <https://doi.org/10.15517/rbt.v47i4.19346>
- Baxter, D. J. M., Psyllakis, J. M., Gillingham, M. P., & O'Brien, E. L. (2006). Behavioural Response of Bats to Perceived Predation Risk While Foraging. *Ethology*, 112(10), 977-983. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.2006.01249.x>
- Bernal, X. E., & Page, R. A. (2023). Tactics of evasion: Strategies used by signallers to deter eavesdropping enemies from exploiting communication systems. *Biological Reviews*, 98(1), 222-242. <https://doi.org/10.1111/brv.12904>
- Bernal, X. E., Page, R. A., Rand, A. S., & Ryan, M. J. (2007). Cues for eavesdroppers: Do frog calls indicate prey density and quality? *The American Naturalist*, 169(3), 409-415. <https://doi.org/10.1086/510729>
- Borkin, K. M., Easton, L., & Bridgman, L. (2022). Bats attacked by companion and feral cats: Evidence from indigenous forest and rural landscapes in New Zealand. *New Zealand Journal of Zoology*, 1-8. <https://doi.org/10.1080/03014223.2022.2098782>

- Boyles, J. G., & Storm, J. J. (2007). Avoidance of predator chemical cues by bats: An experimental assessment. *Behaviour*, *144*(9), 1019-1032.
- Bürkner, P.-C. (2017). **brms**: An R Package for Bayesian Multilevel Models Using Stan. *Journal of Statistical Software*, *80*(1). <https://doi.org/10.18637/jss.v080.i01>
- Carpenter, B., Gelman, A., Hoffman, M. D., Lee, D., Goodrich, B., Betancourt, M., Brubaker, M., Guo, J., Li, P., & Riddell, A. (2017). Stan: A Probabilistic Programming Language. *Journal of Statistical Software*, *76*(1). <https://doi.org/10.18637/jss.v076.i01>
- Carter, G., Schoeppler, D., Manthey, M., Knörnschild, M., & Denzinger, A. (2015). Distress calls of a Fast-Flying Bat (*Molossus molossus*) Provoke inspection flights but not cooperative mobbing. *PLOS ONE*, *10*(9), e0136146. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136146>
- Chaverri, G., Gillam, E. H., & Kunz, T. H. (2013). A call-and-response system facilitates group cohesion among disc-winged bats. *Behavioral Ecology*, *24*(2), 481-487. <https://doi.org/10.1093/beheco/ars188>
- Chaverri, G., Gillam, E. H., & Vonhof, M. J. (2010). Social calls used by a leaf-roosting bat to signal location. *Biology Letters*, *6*(4), 441-444. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0964>
- Chaves-Ramírez, S., Castillo-Salazar, C., Sánchez-Chavarría, M., Solís-Hernández, H., & Chaverri, G. (2021). Comparing the efficiency of monofilament and regular nets for capturing bats. *Royal Society Open Science*, *8*(12), 211404. <https://doi.org/10.1098/rsos.211404>
- Dapper, A. L., Baugh, A. T., & Ryan, M. J. (2011). The sounds of silence as an alarm cue in Túngara frogs, *Physalaemus pustulosus*. *Biotropica*, *43*(3), 380-385. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.2010.00707.x>
- Faure, P. A., & Hoy, R. R. (2000). The sounds of silence: Cessation of singing and song pausing are ultrasound-induced acoustic startle behaviors in the katydid *Neoconocephalus ensiger* (Orthoptera; Tettigoniidae). *Journal of Comparative Physiology A: Sensory, Neural, and Behavioral Physiology*, *186*(2), 129-142. <https://doi.org/10.1007/s003590050013>

- Friard, O., & Gamba, M. (2016). BORIS: A free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods in Ecology and Evolution*, 7(11), 1325-1330. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12584>
- Gamba-Rios, M. (2019). *Anti-predator behavior in Neotropical bats* [PhD dissertation, University of Tennessee]. [https://trace.tennessee.edu/utk\\_graddiss/5369](https://trace.tennessee.edu/utk_graddiss/5369)
- Gomez Romero, M. (2020). Dinámica Poblacional y dieta del *Cebus capucinus* (Primates: Cebidae), en el refugio de vida silvestre Barú, Puntarenas, Costa Rica. *Ecología y desarrollo sostenible*, 2, 15.
- Greenfield, M. D., & Baker, M. (2003). Bat avoidance in non-aerial insects: The silence response of signaling males in an acoustic moth. *Ethology*, 109(5), 427-442. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0310.2003.00886.x>
- Griffin, D. R. (1971). The importance of atmospheric attenuation for the echolocation of bats (Chiroptera). *Animal Behaviour*, 19(1), 55-61. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(71\)80134-3](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(71)80134-3)
- Gual-Suárez, F., & Medellín, R. A. (2021). We eat meat: A review of carnivory in bats. *Mammal Review*, 51(4), 540-558. <https://doi.org/10.1111/mam.12254>
- Holderied, M. W., Thomas, L. A., & Korine, C. (2018). Ultrasound avoidance by flying antlions (Myrmeleontidae). *Journal of Experimental Biology*, 221(21), jeb.189308. <https://doi.org/10.1242/jeb.189308>
- Holdridge, L. R. (1978). *Ecología basada en zonas de vida*. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas.
- IUCN. (2015). *Trachops cirrhosus*: Miller, B., Reid, F., Arroyo-Cabrales, J., Cuarón, A.D. & de Grammont, P.C.: *The IUCN Red List of Threatened Species 2015*: e.T22029A22042903 [Dataset]. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T22029A22042903.en>
- IUCN. (2018). *Vampyrum spectrum*: Solari, S.: *The IUCN Red List of Threatened Species 2018*: e.T22843A22059426 [Dataset]. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2018-2.RLTS.T22843A22059426.en>
- Jones, P. L., Page, R. A., Hartbauer, M., & Siemers, B. M. (2011). Behavioral evidence for eavesdropping on prey song in two Palearctic sibling bat species. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 65(2), 333-340. <https://doi.org/10.1007/s00265-010-1050-9>

- Martínez-Fonseca, J. G., Mau, R., Walker, F. M., Medina-Fitoria, A., Yasuda, K., & Chambers, C. L. (2022). *Vampyrum spectrum* (Phyllostomidae) movement and prey revealed by radio-telemetry and DNA metabarcoding. *PLOS ONE*, *17*(4), e0265968. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265968>
- Mikula, P. (2015). Fish and amphibians as bat predators. *European Journal of Ecology*, *1*(1), 71-80. <https://doi.org/10.1515/eje-2015-0010>
- Mikula, P., Hromada, M., & Tryjanowski, P. (2013). Bats and swifts as food of the European Kestrel (*Falco tinnunculus*) in a small town in Slovakia. *Ornis Fennica*, *90*(3), 178-185. <https://doi.org/10.51812/of.133832>
- Noronha, J. D. C. D., Battirola, L. D., Chagas Júnior, A., Miranda, R. M. D., Carpanedo, R. D. S., & Rodrigues, D. D. J. (2015). Predation of bat (*Molossus molossus*: Molossidae) by the centipede *Scolopendra viridicornis* (Scolopendridae) in Southern Amazonia. *Acta Amazonica*, *45*(3), 333-336. <https://doi.org/10.1590/1809-4392201404083>
- Page, R. A., & Ryan, M. J. (2005). Flexibility in assessment of prey cues: Frog-eating bats and frog calls. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *272*(1565), 841-847. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2998>
- Premate, E., Zgamaister, M., & Fišer, C. (2021). Inferring predator–prey interaction in the subterranean environment: A case study from dinaric caves. *Scientific Reports*, *11*(1), 21682. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01249-8>
- Rhebergen, F., Taylor, R. C., Ryan, M. J., Page, R. A., & Halfwerk, W. (2015). Multimodal cues improve prey localization under complex environmental conditions. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, *282*(1814), 20151403. <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.1403>
- Rodríguez-Matamoros, J., Villalobos-Brenes, F., & Gutiérrez-Espeleta, G. A. (2012). Viabilidad poblacional de *Alouatta palliata* (Primates: Atelidae) y *Cebus capucinus* (Primates: Cebidae) en el Refugio de Vida Silvestre Privado Nogal, Sarapiquí, Heredia, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, *60*(2). <https://doi.org/10.15517/rbt.v60i2.4001>

- Russ, J. M., Jones, G., Mackie, I. J., & Racey, P. A. (2004). Interspecific responses to distress calls in bats (Chiroptera: Vespertilionidae): a function for convergence in call design? *Animal Behaviour*, 67(6), 1005-1014. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2003.09.003>
- Silva, S. G., Ferreira, F. F., Guilherme, F. A. G., & Canale, G. R. (2022). Attack of a wide-ranging neotropical owl (*Glaucidium brasilianum*) on an abundant species of fruit bat (*Carollia perspicillata*) in the Brazilian cerrado. *Oecologia Australis*, 26(4), 630-636. <https://doi.org/10.4257/oeco.2022.2604.10>
- Spangler, H. G. (1984). Silence as a defense against predatory bats in two species of calling insects. *The Southwestern Naturalist*, 29(4), 481. <https://doi.org/10.2307/3671001>
- Szczygieł, H. A., & Page, R. A. (2020). When the hunter becomes the hunted: Foraging bat attacked by Pit Viper at frog chorus. *The Bulletin of the Ecological Society of America*, 101(4). <https://doi.org/10.1002/bes2.1751>
- Tapanes, E., Detwiler, K. M., & Cords, M. (2016). Bat predation by cercopithecus monkeys: Implications for zoonotic disease transmission. *EcoHealth*, 13(2), 405-409. <https://doi.org/10.1007/s10393-016-1121-0>
- Tuttle, M. D., & Ryan, M. J. (1981). Bat Predation and the Evolution of Frog Vocalizations in the Neotropics. *Science*, 214(4521), 677-678. <https://doi.org/10.1126/science.214.4521.677>
- Vehrencamp, S. L., Stiles, F. G., & Bradbury, J. W. (1977). Observations on the Foraging Behavior and Avian Prey of the Neotropical Carnivorous Bat, *Vampyrum spectrum*. *Journal of Mammalogy*, 58(4), 469-478. <https://doi.org/10.2307/1379995>
- Wu, X., Pang, Y., Luo, B., Wang, M., & Feng, J. (2019). Function of Distress Calls in Least Horseshoe Bats: A Field Study Using Playback Experiments. *Acta Chiropterologica*, 20(2), 455. <https://doi.org/10.3161/15081109ACC2018.20.2.015>
- Yack, J. E., Raven, B. H., Leveillee, M. B., & Naranjo, M. (2020). What does an insect hear? Reassessing the role of hearing in predator avoidance with insights from vertebrate prey. *Integrative and Comparative Biology*, 60(5), 1036-1057. <https://doi.org/10.1093/icb/icaa097>
- Yoh, N., Syme, P., Rocha, R., Meyer, C. F. J., & López-Baucells, A. (2020). Echolocation of Central Amazonian ‘whispering’ phyllostomid bats: Call design and interspecific

variation. *Mammal Research*, 65(3), 583-597. <https://doi.org/10.1007/s13364-020-00503-0>

## CHAPTER 2: Risky conditions foster social selectivity during contact calling

### ABSTRACT:

Cooperation buffers animals against harsh, rapidly changing environments, yet helping is a valid strategy when its costs are outweighed by the benefits. The call-and-response system of the disc-winged bat, *Thyroptera tricolor*, is a suitable system to study how costs modulate helping. These bats produce “inquiry” calls in flight; in reply to these signals, bats within a roost produce “response” call. Response calling helps group members find a new roost quickly, even though it is energetically costly and may attract eavesdropping predators. Given Hamilton's rule, which predicts that as the cost of helping rises individuals should help only when the product of relatedness and benefits to the donor outweighs its cost, we tested how donors (i.e., bats producing response calls) adjust their number of response calls to various social partners in the presence of predator cues. Playback experiments were conducted to present inquiry calls from four social categories, both individually and in conjunction with predator or insectivorous echolocation signals, and the donors' vocal responses were quantified. Predator signals resulted in a 61% reduction in response calls. Bats were most likely to signal to partners with whom they shared both relatedness and social bonds in risky contexts. The present study demonstrates that cooperative signalling in *T. tricolor* is highly context-dependent, emerging from the integration of ecological risk and social relationships.

### INTRODUCTION

Cooperation is a powerful defence against environmental hardship. Populations are usually more resilient in deteriorating habitats when individuals help each other. This demographic benefit has been confirmed by individual-based simulations: populations containing more cooperators persist across a wider range of deteriorating conditions than populations of defectors (Chen et al., 2022). Empirical examples support the results of these simulations, with examples that span larval insects that forage communally (Dombrovski et al., 2020) to vertebrate societies that defend, breed or migrate as units (De Dreu et al.,

2016; Russell & Hatchwell, 2001; Venturino & Petrovskii, 2013). Nevertheless, cooperation usually involves costs for individuals, which raises the question of how cooperative behaviours evolve despite these costs.

In contexts of increased environmental risk, cooperative theory predicts that donors will adjust their level of cooperation towards partners who maximize their inclusive fitness or provide reciprocal benefits. According to Hamilton's rule ( $rB > C$ ), cooperation is favoured primarily when genetic relatedness ( $r$ ) or direct benefits ( $B$ ) are high and the cost or risk of helping ( $C$ ) remains low. This promotes preferential assistance to closely related individuals (Bourke, 2014; Hamilton, 1964). For example, common vampire bats (*Desmodus rotundus*) dramatically reduced food sharing after a risky floor-feeding manipulation, yet the few donations that still occurred, became markedly more nepotistic (Carter et al., 2017). However, in stable social groups, cooperation often extends beyond kin through mechanisms such as reciprocity. Trivers (1971) suggested that repeated interactions and mutual dependence offset the costs of helping because they increase the likelihood of reciprocity and the exclusion of cheaters. In support of this theory, superb starlings (*Lamprolornis superbus*) frequently provided help with breeding to non-kin individuals with whom they had strong social bonds. Such stable relationships likely increase the probability of future encounters and reciprocal aid, rendering investments in non-kin partners evolutionarily profitable, even in groups with low average relatedness (Earl et al., 2025). Similarly, Trinidadian guppies (*Poecilia reticulata*) preferentially inspected predators alongside familiar shoal mates (Croft et al., 2006). This behavioural bias likely arises because strong social bonds provide a framework for repeated interactions, reducing uncertainty about partner reliability and increasing the likelihood of reciprocation. Together, these findings illustrate how ecological threats, and social stability can both bias cooperative efforts towards kin and strongly associated partners, thereby highlighting the adaptive interplay between social bonds and environmental risk.

The generation of some acoustic signals, especially signals that facilitate access to a resource, are frequently regarded as cooperative behaviour, as it yields advantages to other group members, including enhanced coordination and increased survival rates. For instance, in meerkats (*Suricata suricatta*), sentinels emit vigilance calls that inform foragers about the

presence of predators and allow them to feed more safely (Moran, 1984). Similarly, in the pied babbler (*Turdoides bicolor*), sentinels produce watchman's songs that keep group members updated on predation risk while they forage (Bell et al., 2009). In bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*), male dolphins within alliances have been observed to coordinate their acoustic signals in order to herd and coerce oestrus females (Moore et al., 2020). The production of acoustic signals entails significant costs to signallers. Experimental evidence in pied babblers has demonstrated that sentinels producing vigilance calls are more likely to be attacked by predators than foraging group members (Ridley et al., 2013). Also, in male field crickets (*Gryllus campestris*) increase their metabolic rate by 30% during the emission of mating calls (Hack, 1998).

Spix's disc-winged bats rely on acoustic cooperation to maintain group cohesion in ephemeral roosts (Chaverri & Gillam, 2016). These bats roost inside the developing tubular leaves of the order Zingiberales, like *Heliconia* or *Calatea*, that unfold in less than 24 hours, forcing bats to relocate daily to a new roost. They coordinate this process using an inquiry-response system: flying bats emit "inquiry" calls and roosting individuals reply with "response" calls to signal roost location (Chaverri et al., 2010, 2013). Groups are characterized by high levels of kinship (Wilkinson et al., 2019), are socially stable (Chaverri, 2010) and, within groups, there may be vocal and non-vocal individuals (Chaverri et al., 2020). Having a vocal individual in a roost, emitting response calls, decreases search time for other group members, reducing the costs of flight and exposure to predators. However, response calls are energetically costly; emitting response calls increases the metabolic rate of the signalling individual by 11% (Chaverri et al., 2021). Moreover, it has been observed that *T. tricolor* ceases response calls when it hears echolocation calls from *Vampyrum spectrum*, a possible predator (Gamba-Rios et al., 2025). This suggests that the emission of response calls by bats in the roost may pose a potential threat to their own safety.

Given the significant costs to vocal individuals, and the benefits accrued by group members, disc-winged bats may be expected to be selective about whom they vocalize to within roosts. However, previous studies using within-group dyads found no link between call rates and relatedness or co-roosting history (Chaverri et al., 2024). Here, we test whether indiscriminate calling persists when we increase the perceived costs by simulating the

presence of predators. We predict that under predation risk, bats will preferentially respond to either close kin or to individuals with whom they have a stronger association history. By modelling how kinship, association and predation risk influence the number of response calls, we evaluate whether predation risk triggers selective cooperation. Our experimental approach provides a robust test of how ecological pressures interact with social relationships to shape cooperative signalling.

## METHODS

### 2.1 Study population and experimental subjects

Our study used an ongoing, long-term monitoring programme of *T. tricolor* at the Hacienda Barú Biological Research Station in Puntarenas, Costa Rica. There, bats roost in patches of *Heliconia* and *Calathea* within a 6-hectare core survey area. In January and June 2024, we captured the experimental subjects using the project's standardized protocol of sealing active leaf roosts with plastic bags and transferring the bats to cotton holding bags. All captured individuals (including those later used in experiments) were processed in accordance with the long-term protocol. Juveniles (over 2 months old) and adults were fitted with PIT tags (Biomark Mini HPT8, measuring 8.5 x 1.4 mm and weighing 0.09 g), and their mass, forearm length, age class and reproductive status were recorded. The broader project involved daily roost monitoring using digital readers (Biomark HPR Lite, Inc., Idaho, USA) for one week per month. Our experimental bats were selected based on previous roost surveys conducted during the study period and one year prior to this, ensuring that their recent activity patterns were well understood. This capture methodology provided both the experimental subjects and the contextual demographic data required for kinship/association analyses.

### 2.2 Kinship and association indices

To test how bats respond to different conspecifics with and without the risk of predation, pairwise relatedness ( $r$ ) was obtained from Chaverri et al. (2024) if data were available. For individuals without genotypic data, preliminary classifications were made based on birth records and maternal identity. These were later cross validated against genetic information when it became available. In cases where mismatches were found, the social

category was corrected accordingly, and only the updated classification was retained. However, for a subset of individuals for whom genotyping results could not be obtained, we retained the initial genealogical assignments based on maternal lineage. Dyads with  $r > 0.125$  were classified as kin, and those with  $r < 0.125$  as non-kin (Pereira et al., 2023).

Social associations were quantified using the Simple Ratio Index (SRI) with the *asnipe* R package (Farine, 2013), calculated as the proportion of days two individuals shared a roost over the total number of observation days. The index ranges from 0, indicating that two individuals were never observed roosting together, to 1, indicating that they were always found together. We used an SRI threshold of 0.5 to define associated dyads, aligning our classification with the mean association strength reported by Chaverri et al. (2024) in *T. tricolor*. Their analysis showed that within-group pairs had an average SRI of 0.51, making this threshold both statistically representative and biologically conservative for identifying strong co-roosting associations.

Individuals included in playback trials had inquiry calls for at least three of the four kinship/association categories. These social categories were: (1) kin-associated (K-A), (2) non-kin-associated (NK-A), (3) kin-not associated (K-NA), and (4) non-kin-not associated (NK-NA). For the subjects selected for the experimental phase of the study, a series of playback files were prepared, the details of which are outlined in the following section.

## 2.3 Experiments and playback design

### 2.3.1 Acoustic stimuli and playback assembly

#### 2.3.1 Acoustic stimuli and playback assembly

To obtain inquiry calls, each group member was recorded once in the flight cage. Two omnidirectional microphones were placed inside the flight cage to record calls using the Avisoft UltraSoundGate 416 (Avisoft Bioacoustics) connected to a laptop running Avisoft-Recorder software (sampling rate: 500 kHz, 16-bit resolution). From these recordings, we selected seven inquiry calls with the highest amplitude, which were used to construct 15-second sequences used during playback trials. For the risk stimuli, we used echolocation sequences from two different species: *Rhogeessa bickhami* (an insectivorous bat, low-risk control) and *Vampyrum spectrum* (a carnivorous bat and potential predator, high-risk). All

clips were edited in Avisoft SASLab Pro v5.3.2-36. All recordings were peak normalized (75% amplitude) so the signal amplitude for each clip fell within the range of  $-40$  dB to  $-30$  dB full scale. Each inquiry track was triplicated to create three versions: one 'contact-only', one predator-risk and one insectivore-risk. These three versions formed two parallel sets of stimuli for the experiment.

Each playback file lasted five minutes and contained three successive blocks. These blocks differed in terms of the social categories involved and whether a risk cue accompanied the inquiry calls (see Table 1). The first block (“Baseline”) consisted only of inquiry calls with no risk cue and was used to measure general call response in the absence of external stimuli. In the remaining two blocks (“Kinship” and “Association”), inquiry calls were accompanied by a risk cue (either from a predator or insectivore), and a single social factor was experimentally varied while the other was held constant. Specifically, in the Kinship block, responses to calls from kin versus non-kin were compared, while keeping association constant (A or NA); in the Association block, responses to calls from associated versus non-associated individuals were compared, while keeping kinship constant (K or NK). The fixed social category for each bat was predetermined and balanced across subjects to avoid confounds (see coloured highlight in Table 1).

Within each block, four inquiry sequences of 15 seconds were broadcast, each containing seven calls previously selected for their high amplitude. Each sequence was followed by 15 seconds of silence to allow the bat to resettle, except in the Baseline block, where sequences were continuous. In total, 28 calls were presented per block, yielding 84 inquiry calls per trial. To facilitate automated call classification (see section 2.4), pure tones of 0.1 seconds duration were included at key moments of the playback: one tone at the start of the file, one before each transition between blocks (“Tran1” and “Tran2”), and one at the end of the playback.

**Table 1.** Structure of the playback sequence used in trials. K: Kin, NK: Non-kin, A: Associated, NA: Not-Associated.

Block (order)	Risk cue present	Social factor varied	Social factor fixed	Total block duration	Example inquiry categories
Baseline (1)*	No	ALL	—	1 min	K-A, NK-A, K-NA, NK-NA **
Kinship (2)	Yes	Kinship (K vs NK)	Association (A or NA)	2 min	(1) <u>K-A, NK-A</u> (2) <u>K-NA, NK-NA</u> ***
Association (3)	Yes	Association (A vs NA)	Kinship (K or NK)	2 min	(1) <u>K-A, K-NA</u> (2) <u>NK-A, NK-NA</u> ***

\* This block was not included for replicates 3 to minimize the effect of habituation. \*\* If calls for one category were unavailable for a focal bat, one available category was randomly repeated to keep the baseline duration constant. \*\*\* According to the categories available for each bat, the option of the social factor fixed, which was highlighted in a different colour, was selected.

### 2.3.2 Acoustic Experiments

Experiments were run on 36 focal bats; a single individual was released into a mesh flight cage ( $1.7 \times 1.4 \times 1.2$  m; see Figure S1), which contained a freshly cut *Calathea lutea* leaf that had been formed into a cone. If the bat failed to enter the cone within three minutes, it was captured with a hand net and then placed within the roost; we then waited one minute to start the playback sequence (Table 1). Most of the bats completed three replicate sequences on non-consecutive days, with some completing four and others completing only two. Different randomized playback sequences per individual were used to avoid pseudoreplication. Once the sequence was complete, the bat was reunited with its roost mates in a cotton holding bag. Once all individuals in the group had been tested, the full group was offered mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) and water *ad libitum*. The group was then released at its original roosting site.

## 2.4. Call annotation and treatment assignment

The recordings were annotated in Raven Pro 1.6.5 using a fixed spectrogram preset (Hann window, 785-sample Fast Fourier Transform (FFT), 50% overlap and 50% contrast). The transition tones (Start, Tran1, Tran2 and End) and every signal emitted (including response calls, echolocation signals, and other types of signals) by the focal bat were tagged using the selection tool and exported as text tables. All tables were then merged in R using the Rraven package (Araya-Salas, 2020). A Python script was then used to match each call to its treatment by reading the time-stamped transition tones and the known block structure. A random 10% subset of files was visually inspected to confirm accuracy, and 100% agreement was found between manual labels and automated assignments. This provided confidence that the full dataset was correctly and objectively classified.

## 2.5. Statistical analysis

All analyses were carried out in R 4.4.0. To investigate the joint influence of predation risk, kinship and association strength on response-call counts in *T. tricolor*, we fitted a Bayesian approach of zero-inflated negative binomial mixed model (ZINB). This approach accounted for the overdispersion of the count data and the excess zeros (non-responses), while also incorporating random effects. Previous studies have demonstrated that *T. tricolor* rapidly habituates to repeated acoustic stimuli (Hernández-Pinsón et al., 2022). We therefore conducted two complementary analyses: (1) a full model incorporating all replicates (1–4), with replicate as a fixed factor to quantify habituation and make the repeatability analysis; and (2) a Replicate 1-only model to examine unhabituated responses. Both models included fixed effects for kinship (kin/non-kin), association (associated/non-associated), predation risk (control/insectivorous/predator), and their interactions, plus random intercepts for bat identity (bat\_id), playback sequence (playlist\_id).

We compared models using leave-one-out cross-validation (LOO). This showed that the zero-inflated negative binomial (ZINB) model was better than the standard negative binomial (NB) model. The difference between their expected log predictive densities (ELPD) was 77.4 (SE = 12.2). Posterior predictive checks showed that the ZINB model was able to capture data characteristics, including overdispersion and excess zeros. All models were fitted using four Hamiltonian Monte Carlo chains (4 chains, 4000 iterations each, with 50%

warm-up) and weakly informative priors ( Normal(0, 10) for fixed effects (b), Cauchy(0, 2) for standard deviations of random effects (sd), Gamma(0.01, 0.01) for the shape parameter of the negative binomial distribution (shape), and Logistic(0, 1) for the zero-inflation parameter (zi) ). We checked that all  $\hat{R}$  values were below 1.01 and that the trace plots for chain mixing and stability were stable. This was done to verify convergence. For the full model, we calculated intraclass correlation coefficients (ICC) by comparing the variance attributed to bat\_id with the residual variance across posterior samples (see the Supplementary Material for the formula).

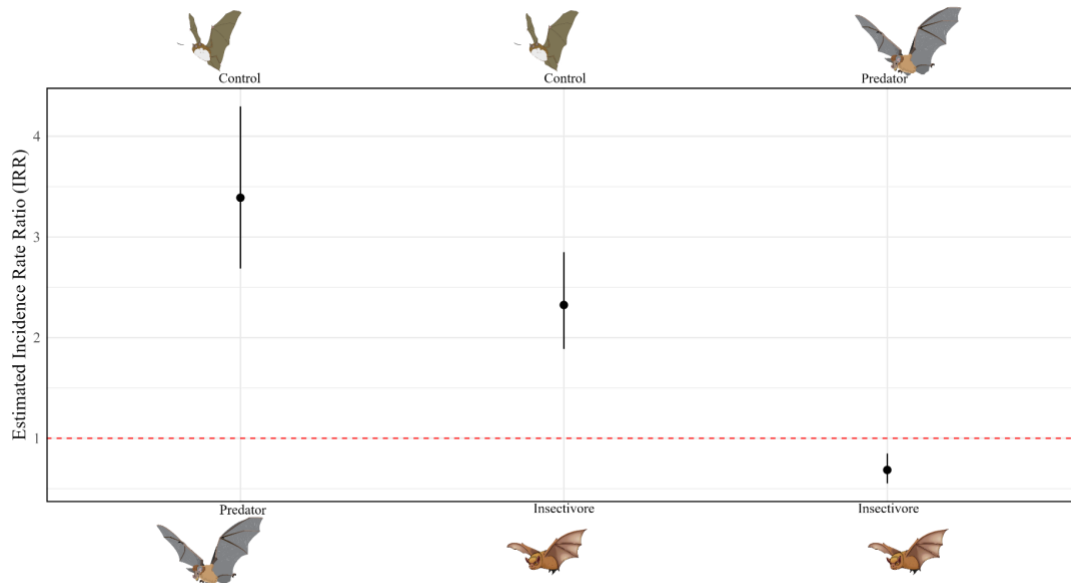
For all hypothesis testing, we computed posterior contrasts through a two-stage process using emmeans (Lenth, 2024) in the Replicate 1 Model. All contrasts were converted to incidence-rate ratios ( $IRR = \exp[\Delta \log \mu]$ ), and 95% credible intervals were calculated from 8,000 posterior draws per contrast. First, we estimated the marginal means and conducted Tukey-adjusted pairwise comparisons between the risk treatments (control/predator, control/insectivorous and insectivorous/predator). We then compared the four kinship-by-association combinations within the control and predator treatment contrasts. To visualize the biologically most relevant context, we plotted the control and predator observations (668 records) as box plots. Contrasts for which the CI did not include one were highlighted with bracket annotations above the plots.

## RESULTS

Our experiments with 36 bats (31 vocal responders and five non-vocal) revealed rapid habituation, with response calls declining sharply after the first trial. Compared to Replicate 1, the bats emitted 83% fewer calls in Replicate 2, 96% fewer in Replicate 3 and 71% fewer in Replicate 4. Random effects accounted for a moderate proportion of the variability in the responses. In replicate 1, the standard deviation (SD) for variability across playback playlists (playlist\_id, SD = 0.91) was similar to the SD for differences between individual bats (bat\_id, SD = 0.89). In the full model, the random variation associated with bat identity and playlists was more balanced (SD = 0.33 for both), with an intraclass correlation coefficient of 0.49 for bat\_id. This indicates that consistent individual differences account for around ~50% of call rate variance, alongside variability associated with playback playlists. These results suggest

that full model simulations may be affected by habituation effects. Because of this, we decided to focus on the replicate 1 model to further examine response dynamics.

We found strong statistical evidence of a reduction in the expected number of calls emitted by bats in response to inquiry calls when predator (IRR = 0.39, 95% CI = 0.28–0.54) and insectivore (IRR = 0.54, 95% CI = 0.54–0.74) stimuli were present compared to controls (Table S1). Specifically, bats emitted an estimated 70.5% fewer calls in response to the inquiry calls when predators were present than in the control condition, and 57.3% fewer when insectivorous stimuli were present. Furthermore, a direct comparison of the predator and insectivore stimuli revealed that bats emitted approximately 31% fewer calls in response to the inquiry calls with the predator stimulus added (see Figure 1 and for IRR and its CI see Table S2). These results clearly demonstrate graded suppression of vocal responses depending on the perceived level of threat.

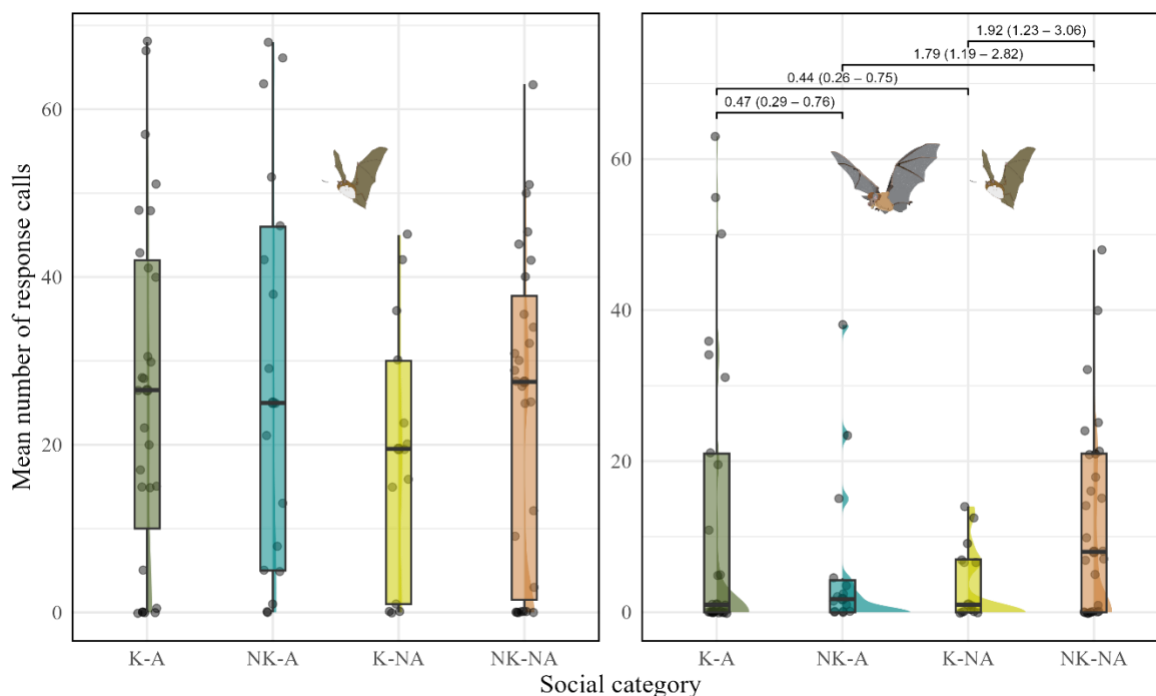


**Figure 1.** Contrasts of the estimated Incidence Rate Ratio (IRR) under different acoustic risk conditions for the Replicate 1 Model. The points represent the estimated mean, and the bars indicate the 95% credible intervals. The dashed line at IRR = 1 represents the absence of an effect. The bat illustrations outside the graph indicate the conditions being compared in each contrast, where an IRR greater than 1 suggests a higher emission of response calls in the upper condition compared to the

lower one. Illustrated bats represent *T. tricolor* (control), *V. spectrum* (predator), and *R. bickhami* (insectivore).

Kinship or association fixed effects by itself did not explain the variation of the response calls (the confidence interval of the coefficients included zero, Table S1) but the interaction between kinship and predator cues indicated a further decrease in the predicted number of calls (IRR = 0.50, 95% CI: 0.39–0.74), implying that the presence of signals from kin did not offset the inhibitory impact of predator stimuli. Similarly, the interaction between association and predator cues predicted a lower expected rate of vocal responses (IRR = 0.58, 95% CI: 0.33–0.99). However, the three-way interaction between kinship, association and predator cues showed a different pattern: the model predicted a substantially higher expected number of calls in this combined social context (IRR = 3.67, 95% CI: 1.58–8.54) (Table S1). This indicates that the presence of both kinship and association cues simultaneously may reduce the suppression of vocal activity caused by predators.

During the control trial, bats responded with a similar number of calls to kin and non-kin, and associated and non-associated conspecifics, showing no evidence of social bias under low-risk conditions (Figure 2). However, under predator conditions, pairwise contrasts indicated clear differences in bats' vocal responses across social categories. Compared to calls from K-A partners, responses to K-NA and NK-A individuals were predicted to decrease by 56% and 53%, respectively. Additionally, calls from K-NA individuals were associated with a 47% reduction in vocal responses relative to NK-NA partners, and calls from NK-A individuals showed a 44% reduction relative to NK-NA (see Figure 2 and for IRR and its CI see Table S3).



**Figure 2.** Response call patterns of *T. tricolor* to social partners under control (left) and predator risk (right) conditions, analysed from Replicate 1 data only. Four social categories are shown: kin-associated (K-A), non-kin associated (NK-A), kin non-associated (K-NA), and non-kin non-associated (NK-NA). Box plots represent medians and interquartile ranges, with individual data points overlaid, with only the data of the first replicate. Violin plots illustrate data distributions. Lines above the box plots represent significant incidence rate ratios (IRR) contrasts identified in the Replicate 1 model.

## DISCUSSION

Our playback experiment investigated if predation risk triggers selective cooperation. Three patterns emerged. First, as predicted, the addition of heterospecific echolocation cues reduced signalling: call emission decreased by 61% when bats were exposed to predator cues, and by 46% when exposed to the insectivore, compared to the silent control. Second, under no-risk control conditions, neither relatedness nor association altered calling rates, findings that are consistent with previous results (Chaverri et al. 2024). Thirdly and most importantly, predation risk revealed intricate social modulation.

The significant three-way interaction between predation risk, kinship, and association highlights that the cooperative signalling decisions of bats are not influenced by a single

social factor in isolation. Rather, these decisions emerge from the interplay of multiple social and ecological factors. In the presence of predators, neither kinship nor association alone counteracted the inhibitory effect of risk on calling. This suggests that the immediate cost of signalling when bats perceive a threat outweighs the potential benefit of assisting close partners when only one social cue is present. However, when both kinship and association were present, bats markedly increased their response rates. This indicates that the dual presence of these social cues provides a strong enough incentive to signal, even in risky conditions. This pattern indicates that bats integrate information about genetic relatedness and social familiarity to determine the most opportune moments for cooperation under threat.

The marked differences among social categories highlight the manner in which bats prioritize signalling towards individuals with whom they share both genetic relations and a history of social interactions. A higher probability of responding to kin-associated partners under predation risk likely reflects the compounded benefits of inclusive fitness and established reciprocal relationships, as we predicted based on kin selection and reciprocity theory (Hamilton, 1964; Trivers, 1971). In contrast, the predicted reduction in responses to kin-not-associated and non-kin-associated individuals suggest that a single social cue – either kinship or association – might be insufficient to justify the cost of signalling in risky conditions. For kin-not-associated individuals, kinship alone may not guarantee reciprocity in the absence of prior or consistent social bonds, while for non-kin-associated individuals, social familiarity without genetic relatedness might fail to offset predation risk. This selectivity may be indicative of a conservative strategy, whereby bats reserve cooperative signals for partners who combine both kinship and association, while minimizing responses to ambiguous partners who provide only partial cooperative incentives.

Interestingly, and opposite to our predictions, bats did not reduce their responses to non-kin-non-associated individuals relative to kin-associated partners under predation risk. Why bats would make such a large investment responding to individuals with whom they seldom or never interact, and who are also non-kin, is a puzzling result. One potential explanation for this phenomenon is that bats may exhibit a generalized reduction in signalling under predation risk yet maintain a baseline level of response to NK-NA individuals for reasons unrelated to cooperation. For instance, these calls could function as deterrent signals, passively advertising the presence of conspecifics within the roost to discourage entry by

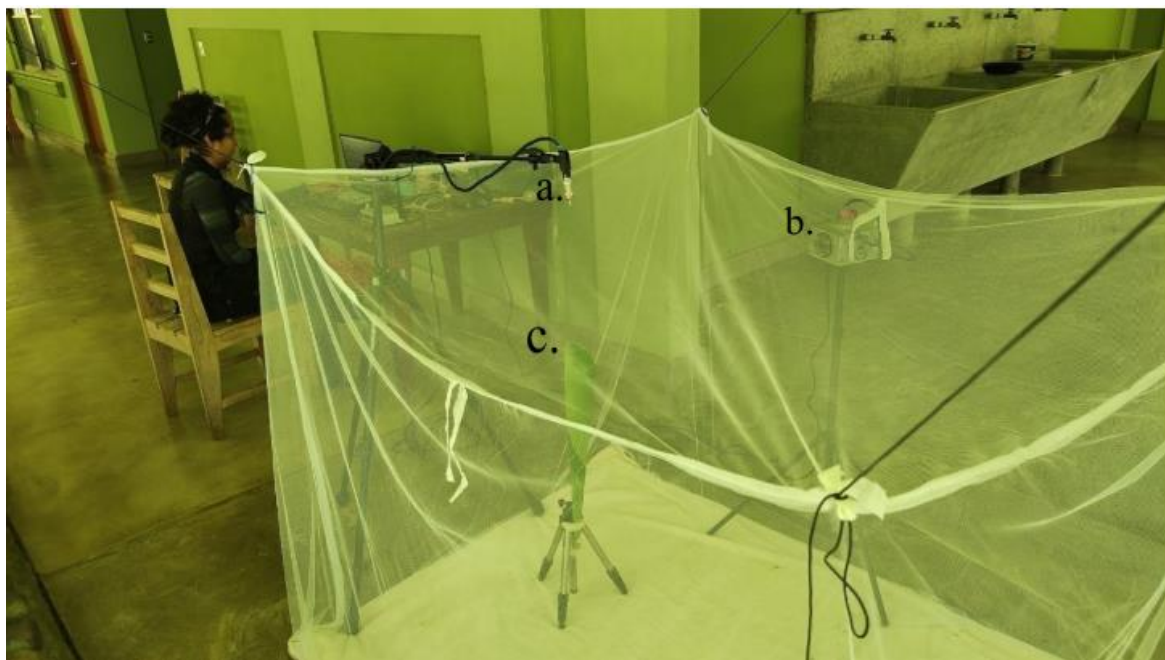
strangers, or as minimal contact cues to reduce potential competition. Alternatively, the apparent similarity in response rates may be attributable to perceptual limitations in distinguishing completely unfamiliar callers. These findings underscore the notion that response calls may serve a variety of functions beyond cooperative recruitment. It is recommended that future studies investigate whether changes in the structure or deployment of response calls convey additional context-dependent information.

The findings of this study provide an important counterpoint to the hypothesis that vocal recognition may be challenging for roosting bats (Chaverri et al., 2024). It has been demonstrated that the acoustic properties of leaf roosts can distort incoming inquiry sounds (Chaverri & Gillam, 2013). However, previous studies have demonstrated that inquiry calls exhibit strong individual signatures and, to a lesser extent, group-level signatures (Gillam & Chaverri, 2012). Furthermore, recent research demonstrates that *T. tricolor* possesses the capacity for advanced acoustic discrimination, including the ability to differentiate between echolocation calls of predatory and non-predatory bats (Gamba-Rios et al., 2025). This evidence suggests that *T. tricolor* possesses the sensory and cognitive abilities required to discriminate among relevant acoustic signals even within its roost. This challenges the notion that the lack of selectivity observed in previous studies is indicative of an absolute constraint for identification among conspecifics. Instead, in the context of predation risk, bats appear to engage more actively in evaluating social cues and deciding whom to respond to.

Taken together, these results highlight how ecological and social factors interact to influence cooperative decisions in complex animal societies. For instance, in the case of purple-crowned fairy-wrens (*Malurus coronatus*), subordinates adjust anti-predator behaviours depending on whether their own offspring or those of relatives are at risk, suggesting that defence is deployed selectively according to contextual benefits (Kern, 2021; Teunissen et al., 2021). Consistent with these findings, the present study demonstrates that, in the presence of predator cues, bats transitioned from an indiscriminate response calling behaviour to a more selective pattern, exhibiting a marked preference for partners with whom they shared both kinship and association. This finding indicates that ecological context has the capacity to unveil latent social modulation in cooperative signalling. In a broader sense, the present study contributes to our understanding of how ecological pressures shape the

flexibility of cooperative communication systems, providing key insights into the dynamic strategies animals use to balance social cohesion and predator avoidance.

### SUPPLEMENTARY MATERIALS



**Figure S1.** Photograph of the flight cage where the experiments were conducted. The microphone (a) and the speaker (b) were directed towards the entrance of the *Calathea lutea* leaf (c).

**Table S1.** Summary of posterior estimates from the two fitted models evaluating the effects of kinship, association, risk context, and trial repetition on the number of response calls. The table shows fixed effects (presented as both log-estimates and incidence rate ratios [IRR]), standard errors, and 95% credible intervals. Significant effects (credible intervals not overlapping IRR = 1) are highlighted in bold. Random effects standard deviations are reported for individual identity (bat\_id) and playback identity (playlist\_id). Distributional parameters for zero inflation (zi\_mean) and dispersion (shape\_mean) are also included.

Section	term	Model	estimate (95%CI)	SD	IRR (95%CI)	% Effect Size
Distributional Parameters	shape_mean	Full	2.29 (1.86 – 2.79)	NA	NA	NA
		Rep 1	3.20 (2.34 – 4.25)	NA	NA	NA
	zi_mean	Full	0.23 (0.19 – 0.14)	NA	NA	NA
		Rep 1	0.12 (0.07 – 0.17)	NA	NA	NA
Random Effects	bat_id	Full	1.98 (1.42 – 2.71)	0.33	NA	NA

		Rep 1	1.74 (0.09– 3.20)	0.89	NA	NA
	playlist_id	Full	1.30 (0.99 – 1.68)	0.33	NA	NA
		Rep 1	1.64 (0.08 – 3.19)	0.91	NA	NA
Fixed Effects (IRR)	(Intercept)	<b>Full</b>	<b>2.72 (1.82 – 3.60)</b>	<b>0.44</b>	<b>15.12 (6.16 – 36.6)</b>	<b>1412</b>
		<b>Rep 1</b>	<b>1.77 (0.84 – 2.66)</b>	<b>0.46</b>	<b>5.89 (2.31 – 14.32)</b>	<b>489</b>
	Kin	Full	-0.14 (-0.48 – 0.20)	0.17	0.87 (0.62 – 1.23)	-13
		Rep 1	-0.04 (-0.35 – 0.44)	0.20	1.04 (0.70 – 1.55)	4
	Associated	Full	-0.04 (-0.34 – 0.27)	0.16	0.96 (0.71 – 1.31)	-4
		Rep 1	-0.04 (-0.39 – 0.30)	0.18	0.96 (0.68 – 1.36)	-4
	Predator	<b>Full</b>	<b>-1.30 (-1.60– -1.00)</b>	<b>0.15</b>	<b>0.27 (0.20 – 0.37)</b>	<b>-73</b>
		<b>Rep 1</b>	<b>-0.93 (-1.27 – -0.61)</b>	<b>0.17</b>	<b>0.39 (0.28 – 0.54)</b>	<b>-61</b>
	Insectivorous	<b>Full</b>	<b>-0.94 (-1.22 – 0.66)</b>	<b>0.14</b>	<b>0.39 (0.29 – 0.51)</b>	<b>-61</b>
		<b>Rep 1</b>	<b>-0.61 (-0.93 – 0.30)</b>	<b>0.16</b>	<b>0.54 (0.40 – 0.74)</b>	<b>-46</b>
	rep2	<b>Full</b>	<b>-1.78 (-2.60 – -0.99)</b>	<b>0.41</b>	<b>0.17 (0.07 – 0.36)</b>	<b>-83</b>
	rep3	<b>Full</b>	<b>-3.30 (-4.29 – -2.40)</b>	<b>0.48</b>	<b>0.04 (0.01 – 0.09)</b>	<b>-96</b>
	rep4	<b>Full</b>	<b>-1.22 (-2.13 – -0.32)</b>	<b>0.46</b>	<b>0.29 (0.12 – 0.72)</b>	<b>-71</b>
	Kin:Associated	Full	0.29 (-0.21 – 0.79)	0.26	1.33 (0.81 – 2.21)	33
		Rep 1	0.11 (-0.27 – 0.43)	0.28	1.12 (0.65 – 1.91)	12
	Kin:Predator	Full	-0.25 (-0.79 – 0.30)	0.28	0.78 (0.45 – 1.35)	-22
		<b>Rep 1</b>	<b>-0.69 (-1.27 – -0.11)</b>	<b>0.29</b>	<b>0.50 (0.39 – 0.74)</b>	<b>-50</b>
	Kin:Insectivorous	Full	-0.24 (-0.79 – -0.25)	0.28	0.78 (0.46 – 1.29)	-22
		Rep 1	-0.40 (-0.93 – 0.13)	0.27	0.67 (0.39 – 1.14)	-33
	Associated:Predator	Full	0.06 (-0.37 – 0.48)	0.22	1.06 (0.69 – 1.62)	6
		<b>Rep 1</b>	<b>-0.54 (-1.10 – -0.01)</b>	<b>0.28</b>	<b>0.58 (0.33 – 0.99)</b>	<b>-42</b>
	Associated:Insectivorous	Full	-0.15 (-0.57 – 0.26)	0.21	0.86 (0.57 – 1.30)	-14
		Rep 1	-0.22 (-0.74 – 0.28)	0.26	0.80 (0.49 – 1.33)	-20

Kin:Associated:Predator	Full	0.31 (-0.40 – 1.02)	0.37	1.36 (0.66 – 2.78)	36
	<b>Rep 1</b>	<b>1.29 (0.46 – 2.15)</b>	<b>0.43</b>	<b>3.65 (1.58 – 8.54)</b>	<b>265</b>
Kin:Associated:Insectivorous	Full	0.31 (-0.41 – 1.02)	0.37	1.37 (0.66 – 2.79)	37
	Rep 1	0.39 (-0.41 – 1.12)	0.39	1.42 (0.66 – 3.05)	42

**Table S2.** Posterior contrasts are presented for the number of response calls in different risk contexts. Estimates are presented on the log scale as incidence rate ratios (IRRs), alongside their corresponding 95% credible intervals. An IRR value greater than 1 indicates a higher number of calls in the first condition of the contrast.

<b>Contrast</b>	<b>estimate (95%CI)</b>	<b>IRR (95%CI)</b>
Control - Predator	1.22 (0.99 – 1.46)	3.39 (2.69 – 4.29)
Control - Insectivorous	0.84 (0.64 – 1.05)	2.34 (1.89 – 2.85)
Predator - Insectivorous	-0.38 (-0.59 – -0.16)	0.69 (0.55 – 0.85)

**Table S3.** Posterior contrasts between social categories under two risk conditions: Control and Predator. Values are presented as log estimates and incidence rate ratios (IRR), each with 95% credible intervals. Percent changes (%1, %2) indicate the relative change in the first and second categories, respectively. Statistically relevant contrasts (credible intervals excluding 1) are highlighted in bold. C = Control, P = Predator, NK = non-kin, K = kin, A = associated, NA = non-associated.

<b>Risk</b>	<b>contrast</b>	<b>estimate (95%CI)</b>	<b>IRR (95%CI)</b>	<b>% 1</b>	<b>% 2</b>
C vs C	NK-NA vs. K-NA	-0.04 (-0.45 – 0.34)	0.96 (0.64 – 1.40)	-4	4.16
	NK-NA vs. NK-A	0.04 (-0.29 – 0.39)	1.00 (0.75 – 1.50)	0	0
	NK-NA vs. K-A	-0.11 (-0.44 – 0.20)	0.89 (0.65 – 1.20)	-11	12.36
	K-NA vs. NK-A	0.08 (-0.36 – 0.54)	1.10 (0.70 – 1.70)	10	-9.09
	K-NA vs. K-A	-0.073 (-0.49 – 0.34)	0.93 (0.61 – 1.40)	-7	7.53
	NK-A vs. K-A	-0.15 (-0.54 – 0.21)	0.86 (0.58 – 1.20)	-14	16.27

Pvs P	<b>NK-NA vs. K-NA</b>	<b>0.65 (0.21 – 1.10)</b>	<b>1.90 (1.20 – 3.10)</b>	<b>90</b>	<b>-47.37</b>
	<b>NK-NA vs. NK-A</b>	<b>0.58 (0.17 – 1.00)</b>	<b>1.80 (1.20 – 2.80)</b>	<b>80</b>	<b>-44.44</b>
	NK-NA vs. K-A	-0.18 (-0.59 – 0.25)	0.84 (0.56 – 1.30)	-16	-16.28
	K-NA vs. NK-A	-0.07 (-0.60 – 0.45)	0.93 (0.55 – 1.60)	-7	7.53
	<b>K-NA vs. K-A</b>	<b>-0.83 (-1.30 – -0.29)</b>	<b>0.44 (0.26 – 0.75)</b>	<b>-56</b>	<b>127.27</b>
	<b>NK-A vs. K-A</b>	<b>-0.76 (-1.20 – -0.28)</b>	<b>0.47 (0.29 – 0.76)</b>	<b>-53</b>	<b>112.77</b>

Supplementary

text:

We based our starting ICC equation on Chaverri et al. (2024), extending it to incorporate the zero-inflation component estimated in our models. For each posterior draw we then:

1. **Extract variance components**

From the posterior draws, extract:

- $\sigma^2_{\text{bat\_id}}$ ,  $\sigma^2_{\text{playlist\_id}}$ : variances of random intercepts on the log scale.
- $\mu$ : expected count ( $\exp(\text{intercept})$ ) for each draw.
- $\theta$ : NB dispersion parameter (shape).
- $\pi$ : zero-inflation probability (zi).

2. **Convert to the count scale**

Random-effect variances on the log scale ( $\sigma^2$ ) are converted to the count scale as:

$$\sigma^2_{\text{count}} = (\exp(\sigma^2) - 1) * \exp(2\mu + \sigma^2)$$

3. **Compute residual variance for zero-inflated NB**

The residual variance combines the NB variance and the zero-inflation component:

$$V_{\text{NB}} = \mu + \mu^2/\theta$$

$$V_{\text{zi}} = \mu^2 * \pi * (1 - \pi)$$

$$V_{\text{resid}} = (1 - \pi) * V_{\text{NB}} + V_{\text{zi}}$$

4. **Calculate ICC for bat\_id**

For each posterior draw, the ICC for bat\_id is:

$$\text{ICC}_{\text{bat\_id}} = \sigma^2_{\text{bat\_id}} / (\sigma^2_{\text{bat\_id}} + \sigma^2_{\text{playlist\_id}} + V_{\text{resid}})$$

and similarly for other random effects by substituting the numerator.

5. **Summarize posterior**

The posterior distribution of each ICC is summarized by its mean and 95% credible interval:

$$\text{Mean} = \text{mean}(\text{ICC\_draws})$$

$$95\% \text{ CrI} = \text{quantile}(\text{ICC\_draws}, c(0.025, 0.975))$$

**LITERATURE CITED**

- Araya-Salas, M. (2020). *Rraven: Connecting R and Raven bioacoustic software*. (Versión R package version 1.0.9.) [Software]. <https://marce10.github.io/Rraven/>
- Bell, M. B. V., Radford, A. N., Rose, R., Wade, H. M., & Ridley, A. R. (2009). The value of constant surveillance in a risky environment. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1669), 2997-3005. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.0276>
- Bourke, A. F. G. (2014). Hamilton's rule and the causes of social evolution. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 369(1642), 20130362. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0362>
- Cabrera, R., López, M. E., & Alfaro, Y. L. (2025). Pre-exposure effect in social foraging: A study with groups of pigeons (*Columba livia*). *Learning and Motivation*, 89, 102088. <https://doi.org/10.1016/j.lmot.2024.102088>
- Carter, G. G., Wilkinson, G. S., & Page, R. A. (2017). Food-sharing vampire bats are more nepotistic under conditions of perceived risk. *Behavioral Ecology*, 28(2), 565-569. <https://doi.org/10.1093/beheco/arx006>
- Chaverri, G. (2010). Comparative social network analysis in a leaf-roosting bat. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 64(10), 1619-1630. <https://doi.org/10.1007/s00265-010-0975-3>
- Chaverri, G., Araya-Ajoy, Y. G., & Sagot, M. (2020). Contact calling in context: Intra- and intergroup variation in vocalization rates depend on a call's function. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 74(5), 57. <https://doi.org/10.1007/s00265-020-02837-w>
- Chaverri, G., & Gillam, E. H. (2013). Sound amplification by means of a horn-like roosting structure in Spix's disc-winged bat. *Proceedings of the Royal Society B: Biological*

*Sciences*, 280(1772), 20132362. <https://doi.org/10.1098/rspb.2013.2362>

Chaverri, G., & Gillam, E. H. (2016). Acoustic Communication and Group Cohesion in Spix's Disc-Winged Bats. En J. Ortega (Ed.), *Sociality in Bats* (pp. 161-178).

Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-38953-0\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-319-38953-0_7)

Chaverri, G., Gillam, E. H., & Kunz, T. H. (2013). A call-and-response system facilitates group cohesion among disc-winged bats. *Behavioral Ecology*, 24(2), 481-487.

<https://doi.org/10.1093/beheco/ars188>

Chaverri, G., Gillam, E. H., & Vonhof, M. J. (2010). Social calls used by a leaf-roosting bat to signal location. *Biology Letters*, 6(4), 441-444.

<https://doi.org/10.1098/rsbl.2009.0964>

Chaverri, G., Sagot, M., Stynoski, J. L., Araya-Salas, M., Araya-Ajoy, Y., Nagy, M.,

Knörnschild, M., Chaves-Ramírez, S., Rose, N., Sánchez-Chavarría, M., Jiménez-Torres, Y., Ulloa-Sanabria, D., Solís-Hernández, H., & Carter, G. G. (2024).

Calling to the collective: Contact calling rates within groups of disc-winged bats do not vary by kinship or association. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 379(1905), 20230195.

<https://doi.org/10.1098/rstb.2023.0195>

Chaverri, G., Sandoval-Herrera, N. I., Iturralde-Pólit, P., Romero-Vásquez, A., Chaves-Ramírez, S., & Sagot, M. (2021). The energetics of social signaling during roost

location in Spix's disc-winged bats. *Journal of Experimental Biology*, 224(14), jeb238279. <https://doi.org/10.1242/jeb.238279>

Chen, Y.-Y., Rubenstein, D. R., & Shen, S.-F. (2022). Cooperation and Lateral Forces: Moving Beyond Bottom-Up and Top-Down Drivers of Animal Population

Dynamics. *Frontiers in Psychology*, 13, 768773.

<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2022.768773>

- Croft, D. P., James, R., Thomas, P. O. R., Hathaway, C., Mawdsley, D., Laland, K. N., & Krause, J. (2006). Social structure and co-operative interactions in a wild population of guppies (*Poecilia reticulata*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *59*(5), 644-650. <https://doi.org/10.1007/s00265-005-0091-y>
- De Dreu, C. K. W., Gross, J., Méder, Z., Giffin, M., Prochazkova, E., Kriek, J., & Columbus, S. (2016). In-group defense, out-group aggression, and coordination failures in intergroup conflict. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *113*(38), 10524-10529. <https://doi.org/10.1073/pnas.1605115113>
- Dombrovski, M., Kuhar, R., Mitchell, A., Shelton, H., & Condon, B. (2020). Cooperative foraging during larval stage affects fitness in *Drosophila*. *Journal of Comparative Physiology A*, *206*(5), 743-755. <https://doi.org/10.1007/s00359-020-01434-6>
- Earl, A. D., Carter, G. G., Berlinger, A. G., Korir, E., Shah, S. S., Watetu, W. N., & Rubenstein, D. R. (2025). A cryptic role for reciprocal helping in a cooperatively breeding bird. *Nature*, *642*(8067), 381-388. <https://doi.org/10.1038/s41586-025-08958-4>
- Farine, D. R. (2013). Animal social network inference and permutations for ecologists in R using *asnipe*. *Methods in Ecology and Evolution*, *4*(12), 1187-1194. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12121>
- Gamba-Rios, M., McCracken, G. F., & Chaverri, G. (2025). Recognition of predator cues hinders social communication. *Biology Letters*, *21*(5), 20250042. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2025.0042>
- Gillam, E. H., & Chaverri, G. (2012). Strong individual signatures and weaker group

- signatures in contact calls of Spix's disc-winged bat, *Thyroptera tricolor*. *Animal Behaviour*, 83(1), 269-276. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2011.11.002>
- Hack, M. A. (1998). The Energetics of Male Mating Strategies in Field Crickets (Orthoptera: Gryllinae: Gryllidae). *Journal of Insect Behavior*, 11(6), 853-867. <https://doi.org/10.1023/A:1020864111073>
- Hamilton, W. D. (1964). The genetical evolution of social behaviour. *Journal of Theoretical Biology*, 7(1), 1-16. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(64\)90038-4](https://doi.org/10.1016/0022-5193(64)90038-4)
- Hernández-Pinsón, H. A., Chaves-Ramírez, S., & Chaverri, G. (2022). Seasonality in the emission of contact calls in Spix's Disc-Winged Bats (*Thyroptera tricolor*) Suggests a potential role in mate attraction. *Acta Chiropterologica*, 23(2), 413-420. <https://doi.org/10.3161/15081109ACC2021.23.2.011>
- Kern, J. M. (2021). Animal cooperation: Context-specific helping benefits. *Current Biology*, 31(18), R1082-R1084. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.07.014>
- Komdeur, J., & Ma, L. (2021). Keeping up with environmental change: The importance of sociality. *Ethology*, 127(10), 790-807. <https://doi.org/10.1111/eth.13200>
- Lenth, R. V. (2024). *Emmeans: Estimated marginal means, aka least-squares means*. R package version 1.10.6-090003. [Software]. <https://github.com/rvlenth/emmeans>
- Moore, B. L., Connor, R. C., Allen, S. J., Krützen, M., & King, S. L. (2020). Acoustic coordination by allied male dolphins in a cooperative context. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 287(1924), 20192944. <https://doi.org/10.1098/rspb.2019.2944>
- Moran, G. (1984). Vigilance Behaviour and Alarm Calls in a Captive Group of Meerkats, *Suricata suricatta*. *Zeitschrift Für Tierpsychologie*, 65(3), 228-240. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0310.1984.tb00101.x>

- Pereira, A. S., De Moor, D., Casanova, C., & Brent, L. J. N. (2023). Kinship composition in mammals. *Royal Society Open Science*, *10*(7), 230486. <https://doi.org/10.1098/rsos.230486>
- Ridley, A. R., Nelson-Flower, M. J., & Thompson, A. M. (2013). Is sentinel behaviour safe? An experimental investigation. *Animal Behaviour*, *85*(1), 137-142. <https://doi.org/10.1016/j.anbehav.2012.10.017>
- Russell, A. F., & Hatchwell, B. J. (2001). Experimental evidence for kin-biased helping in a cooperatively breeding vertebrate. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *268*(1481), 2169-2174. <https://doi.org/10.1098/rspb.2001.1790>
- Teunissen, N., Kingma, S. A., Fan, M., Roast, M. J., & Peters, A. (2021). Context-dependent social benefits drive cooperative predator defense in a bird. *Current Biology*, *31*(18), 4120-4126.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2021.06.070>
- Trivers, R. L. (1971). The Evolution of Reciprocal Altruism. *The Quarterly Review of Biology*, *46*(1), 35-57. <https://doi.org/10.1086/406755>
- Venturino, E., & Petrovskii, S. (2013). Spatiotemporal behavior of a prey–predator system with a group defense for prey. *Ecological Complexity*, *14*, 37-47. <https://doi.org/10.1016/j.ecocom.2013.01.004>
- Wilkinson, G. S., Carter, G., Bohn, K. M., Caspers, B., Chaverri, G., Farine, D., Günther, L., Kerth, G., Knörnschild, M., Mayer, F., Nagy, M., Ortega, J., & Patriquin, K. (2019). Kinship, association, and social complexity in bats. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, *73*(1), 7. <https://doi.org/10.1007/s00265-018-2608-1>