



UNIVERSIDAD DE CHILE



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

“DETERMINACIÓN DE UMBRALES DE INTENSIDAD
ACÚSTICA QUE EVOCAN RESPUESTAS AGRESIVAS EN
SAPO DE CUATRO OJOS (*Pleurodema thaul*)”

JOSÉ FRANCISCO ZAVALA MELO

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias
Biológicas Animales

PROFESOR GUÍA: RIGOBERTO ANTONIO SOLÍS MUÑOZ

**SANTIAGO, CHILE
2009**



UNIVERSIDAD DE CHILE



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

**“DETERMINACIÓN DE UMBRALES DE INTENSIDAD
ACÚSTICA QUE EVOCAN RESPUESTAS AGRESIVAS EN
SAPO DE CUATRO OJOS (*Pleurodema thaul*)”**

JOSÉ FRANCISCO ZAVALA MELO

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Ciencias
Biológicas Animales

NOTA FINAL:

	NOTA	FIRMA
PROFESOR GUÍA: RIGOBERTO ANTONIO SOLÍS MUÑOZ
PROFESOR CONSEJERO: MARIO CLAUDIO PENNA VARELA
PROFESOR CONSEJERO: HÉCTOR HUGO ADARMES AHUMADA

**SANTIAGO, CHILE
2009**

Dedicado a la memoria de mi padre.

AGRADECIMIENTOS

Esta memoria representa el término de largos años de estudio, durante los cuales he recibido el apoyo y la confianza de familiares y amigos que me han acompañado en cada momento y a los cuales deseo en esta oportunidad agradecerles.

En primer lugar debo agradecer al Sr. Rigoberto Solís, profesor guía, por haberme acogido y guiado durante estos últimos años. También quiero agradecer a “El Maestro”, por su ayuda en la permanencia en terreno.

Quiero dar un especial agradecimiento a mis amigos, Josué Inostroza y Karin Arriagada, quienes han estado junto a mí, entregándome toda su energía y ánimo para continuar en los momentos difíciles. No puedo dejar de nombrar a mi madre, por su sustento durante los años de carrera.

Además quiero expresar mis agradecimientos a todos aquellos quienes colaboraron de una u otra forma en el desarrollo de esta memoria, personificados en Carlos Mendoza y Pablo Opazo. Finalmente deseo hacer un agradecimiento especial a Esteban Martínez, quien me motivó a seguir, cuando quería abandonar y quien fue pilar fundamental para terminar con éxito esta etapa de mi vida.

Sinceramente MUCHAS GRACIAS.

ÍNDICE

	Pág.
ÍNDICE.....	1
RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
INTRODUCCIÓN.....	4
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
1.1 Interacciones sociales acústicas.....	6
1.2 Sistema auditivo y producción vocal.....	10
1.3 Presentación del sujeto de estudio: <i>P. thaul</i>	12
OBJETIVO GENERAL.....	15
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
2.1 Sitio de estudio.....	16
2.2 Síntesis de estímulos.....	16
2.3 Sistema experimental y protocolo de estimulación.....	17
2.4 Análisis acústico.....	20
3. RESULTADOS.....	22
4. DISCUSIÓN.....	29
5. CONCLUSIONES.....	32
6. BIBLIOGRAFÍA.....	33

RESUMEN

En los anfibios anuros, la comunicación acústica es ampliamente utilizada como medio de interacción social entre conespecíficos. En la época de apareamiento algunas especies conforman agregaciones o coros, donde los machos emiten vocalizaciones para atraer a las hembras y delimitar su territorio. Las vocalizaciones emitidas más frecuentemente son la llamada de advertencia y la llamada agresiva. Sin embargo, los machos del anuro chileno *Pleurodema thaul* no presentan una llamada agresiva específica, y en las interacciones agresivas modifica la estructura temporal de su llamada de advertencia.

El presente estudio tuvo como objetivo determinar el umbral de intensidad acústica que evoca respuestas agresivas en machos de *P.thaul*. Para este efecto, se diseñó un protocolo experimental que consistió en la presentación de una imitación sintética de la llamada de advertencia a intensidades progresivamente crecientes, hasta alcanzar los niveles que normalmente ocurren en interacciones agresivas.

El análisis de las respuestas vocales evocadas de seis machos, confirmó el umbral de respuesta vocal evocada o acústico reportado previamente y reveló la existencia de una gran variabilidad en el umbral de intensidad de estimulación que evoca respuestas agresivas en los machos. Estos resultados sugieren que la motivación de un macho a emitir llamadas agresivas, podría estar relacionada con factores internos de cada individuo.

ABSTRACT

In anuran amphibians, acoustic communication is widely used as a mean of social conspecific interaction. During mating season, some species form reproductive aggregations or choruses where they produce calls to attract females and demarcate their territories. Vocalizations more frequently emitted are advertisement and aggressive call. However, males of the Chilean frog, *Pleurodema thaul* doesn't have a specific aggressive call, and during aggressive interactions modifies the temporal structure of their advertisement call.

The aim of this study was to determine the threshold of sound intensity that evokes aggressive responses in males of *P. thaul*. For this purpose, we designed an experimental protocol that consisted of the presentation of a synthetic imitation of advertisement call at progressively increasing intensities, reaching levels that normally occur in aggressive interactions.

The analysis of evoked vocal responses of six males, confirmed the acoustic threshold values previously reported and revealed a great variability in the intensity thresholds that evoke a modification of the advertisement call, indicative of an aggressive vocal interaction between males of *P. thaul*. These results suggest that motivation of a male to emit aggressive calls would be related to its internal physiological *status*.

INTRODUCCIÓN

Unos de los aspectos más interesantes, desde el punto de vista del comportamiento, es la manera en que los animales expresan su repertorio conductual a través de diversos despliegues, principalmente visuales y acústicos. En este contexto, la manera en que se comunican los animales y su motivación para hacerlo, adquiere gran relevancia en relación con la reproducción, agresión y forrajeo, entre otras actividades.

Los sistemas de comunicación que utilizan distintos organismos requieren que los individuos, emisores y receptores, cuenten con mecanismos sensoriales y de producción de señales que permitan un intercambio de información efectivo en el medio en que éstas se propagan. En este contexto, se considera que se establece comunicación, cuando la aparición o acciones de un animal influyen sobre el comportamiento de individuos de la misma o distinta especie.

En anuros, las interacciones sociales son mediadas casi exclusivamente por señales acústicas. Durante la época de apareamiento, los machos forman agregaciones reproductivas o coros, en los cuales emiten llamadas cuya función es atraer a las hembras y advertir su presencia a otros machos. En estas circunstancias, la vocalización más común se denomina llamada de advertencia, cuyas características espectrales y temporales permite a las hembras de varias especies seleccionar pareja.

Durante las interacciones agresivas entre machos, la llamada de advertencia puede modificar parcial o totalmente su estructura temporal. Sin embargo, este tipo de vocalizaciones no es atractivo para las hembras y por eso los machos deben minimizar su emisión. Por lo tanto, los machos sólo emiten este tipo de vocalización frente a la amenaza que constituye la aproximación de un macho intruso, la cual es detectada como un aumento de la intensidad de sonido de sus señales acústicas.

Mediante experimentos de respuesta vocal evocada, en el presente estudio se intentó determinar el umbral de intensidad de sonido que evoca la emisión de llamadas agresivas en machos de *Pleurodema thaul*, un anuro leptodactílido de amplia distribución en Chile.

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

En el ámbito de la conducta animal, la comunicación juega un rol fundamental. Los sistemas de comunicación que utilizan distintos organismos requieren de emisores y receptores que permitan un intercambio de información efectivo en el medio en que se propagan las señales (Bradbury y Vehrencamp, 1998). De esta forma, se establece que la comunicación es la transferencia de información a través de señales, especialmente diseñadas, entre un emisor y un receptor (Hailman, 1977; Krebs y Davies, 1993) y ocurre cuando la conducta del receptor difiere solo ante la presencia o ausencia de esa señal (Wilson, 1975; Hailman, 1977). Se establece una “comunicación verdadera”, cuando la señal que porta la información que media la interacción es adaptativa, tanto para el emisor como para el receptor (Dusenbery, 1992).

El término exhibición o despliegue (“display”) es usado para referirse a una señal que ha llegado a ser especializada para la comunicación, en el curso de la evolución, mediante un proceso de ritualización (Rand, 1988). La ritualización parte del supuesto de que tanto el emisor como el receptor se benefician de la información transferida y que se origina para incrementar la eficiencia de la transferencia de dicha información. La ritualización es un proceso, por el cual una conducta que inicialmente contenía una cierta información evolucionó en una señal mediante simplificación, exageración, y/o el aumento del estereotipo de la conducta que originó la señal (McGregor, 2005). Así, los despliegues son señales ritualizadas que se desarrollaron para informar con precisión, sobre atributos o estados motivacionales a los conespecíficos (Rand, 1988). En general, los despliegues en animales están asociados con la reproducción, agresión y alimentación, pero el énfasis varía filogenéticamente (Grier y Burk, 1992).

Por otra parte, algunos autores plantean la existencia de antidespliegues (“antidisplays”). Estos antidespliegues se habrían desarrollado para confundir o engañar y estarían en gran parte dirigidos a depredadores (Rand, 1988).

En anuros (sapos y ranas), la mayoría de los despliegues están relacionadas con la reproducción. Así, diversas especies durante la época reproductiva, producen despliegues que consisten en la emisión de señales comunicativas, principalmente de

tipo acústico. Sin embargo, en algunas especies, principalmente de hábitos diurnos también los despliegues visuales tienen gran importancia, como es el caso de *Atelopus zeteki*, que es una rana sin un oído medio timpánico, por lo que ha tenido que aumentar su repertorio comunicacional, realizando movimientos rotatorios de sus miembros para atraer a las hembras (Lindquist y Hetherington, 1998).

Los diversos canales sensoriales tienen propiedades que los hacen convenientes bajo diferentes situaciones ambientales y sociales. Las ventajas de las señales acústicas son que ellas pueden ser usadas en largas distancias, en ausencia de luz, en ambientes estructuralmente complejos y pueden ser emitidas en todas direcciones. Sin embargo, las señales acústicas también tienen desventajas: son difíciles de dirigir a un blanco específico y así están sujetas a ser detectadas por un rival o un depredador. Además, dado que no persisten en el tiempo deben ser repetidas, demandando un alto costo energético total (Rand, 1988).

La frecuencia e intensidad de la emisión de señales acústicas durante la época reproductiva varía de acuerdo a la estrategia de reproducción de la especie. Los machos con reproducción explosiva forman densas agregaciones en las cuales se desarrolla una intensa, pero breve competencia por la posesión de hembras, por lo que la producción de despliegues acústicos es limitada. En cambio, los machos de reproducción prolongada usualmente vocalizan desde posiciones estables, durante varias semanas, manteniendo un espaciamiento entre ellos (Wells, 1977). Además, estos machos emiten despliegues durante la época reproductiva, que pueden ser más o menos complejos, formando agregaciones reproductivas o coros, en los cuales emiten llamadas que atraen a las hembras y señalan su presencia a otros machos (Wells, 1977). Por lo tanto, la capacidad de producir señales acústicas para atraer a las hembras es un aspecto determinante de la adecuación biológica ("fitness") en especies con reproducción prolongada (Gerhardt, 1991) y los sistemas de comunicación acústica en anuros están sometidos a una fuerte presión de selección sexual (Kelley, 2004).

1.1 Interacciones sociales acústicas

Las señales acústicas de los anuros permiten el reconocimiento intraespecífico y pueden comunicar diversos estados motivacionales (agresivo, reproductivo, alarma,

etc.). Estas señales pueden ser caracterizadas a través de su estructura temporal (duración de la llamada, número y frecuencia de pulsos, número y frecuencia de modulaciones de amplitud, etc; Fig. 1) y espectral (frecuencia dominante, frecuencia fundamental, frecuencias armónicas) (Gerhardt, 1988).

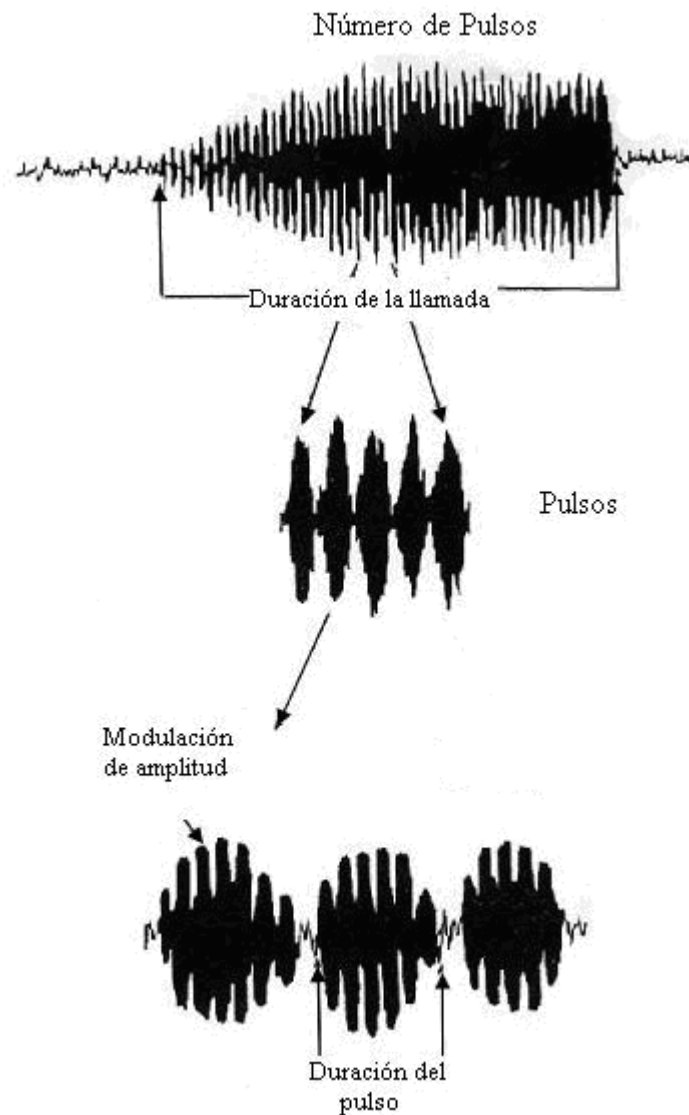


Figura 1: Estructura temporal de la llamada. Esquemas de oscilogramas con diferente velocidad de barrido donde se muestran los componentes temporales de la llamada de un anuro tipo (Fuente: Solís, 1994).

Una clasificación funcional, que solo cubre los despliegues intraespecíficos de los anuros y que usualmente tienen un componente acústico, es la siguiente (Rand, 1988):

- Llamadas de advertencia: son producidas por machos adultos durante la actividad reproductiva. Estas llamadas funcionan para atraer a las hembras y como señal de su presencia a otros machos.
- Llamadas de cortejo: son producidas cuando a un macho se le aproxima una hembra, aunque también en algunas especies, una hembra que está lista para aparearse emite una llamada leve, mientras se aproxima a un macho que esté llamando. Esta llamada es seguida por el amplexo.
- Llamadas agresivas: son producidas por un macho cuando interactúa agresivamente con otro. Se emite habitualmente por un macho propietario de un territorio (residente), ante la aproximación de un macho rival (intruso). También, puede ser emitida por un macho que defiende su progenie. Estos despliegues pueden ser seguidos por un ataque o persecución.
- Llamadas de liberación: son producidas durante el amplexo o un intento de amplexo, por una hembra no receptiva o un macho. Estas llamadas son usualmente seguidas por la liberación del individuo acosado.

Las vocalizaciones más frecuentemente emitidas por los machos durante la época reproductiva son aquellas que expresan información sobre su estado reproductivo y sobre los límites de su territorio (Rand, 1988), siendo éstas las llamadas de advertencia y agresivas (Rose y Brenowitz, 1991), respectivamente.

En general, las llamadas agresivas son de corto alcance y no son atractivas para las hembras, por lo que los machos minimizan su emisión y maximizan la producción de llamadas de advertencia (Wells, 1977). Las llamadas agresivas están limitadas al uso en contextos de interacción antagonista, que ocurren principalmente al inicio de la conformación de los coros (Brenowitz y Rose, 1994).

Debido a que las hembras de varias especies de reproducción prolongada seleccionan a los machos en base a características de la llamada, la habilidad de éstos para señalar su presencia, efectivamente influirá en su éxito reproductivo. Sin embargo,

esta habilidad puede verse comprometida por la interferencia de las llamadas de advertencia de machos vecinos, la cual puede minimizarse manteniendo una distancia conveniente de otros machos que estén vocalizando (Rose y Brenowitz, 1991). En apoyo a esta observación, los machos en los coros no se disponen espacialmente al azar y las vocalizaciones juegan un rol importante en establecer su distribución espacial (Brenowitz, 1989).

La intensidad con la cual es percibida la señal de un vecino determina la característica de la respuesta vocal del macho residente (Brenowitz, 1989). Las intensidades por sobre un cierto nivel pueden provocar, dependiendo de la especie, una modificación de la estructura temporal de la llamada de advertencia o una llamada agresiva. Así, los machos se disponen espacialmente a una distancia tal que las intensidades de las llamadas de los vecinos están por debajo de los umbrales que desencadenan vocalizaciones agresivas (Penna *et al*, 2008), que como se señaló anteriormente, no son atractivas para las hembras.

Se ha demostrado que los umbrales para llamadas agresivas tienen cierta flexibilidad y se modifican de acuerdo a los niveles de intensidad de los estímulos expuestos, en un proceso denominado acomodación. Cuando un macho residente detecta la llamada de un intruso por sobre su umbral, inmediatamente cambia la producción de llamadas de advertencia a una de tono agresivo. En estas circunstancias, la producción de llamadas agresivas generalmente detiene la aproximación del macho intruso. Sin embargo, si el intruso continúa emitiendo llamadas de advertencia con una intensidad constante y persistente, presumiblemente a una distancia igualmente constante con lo que no significa una real amenaza para el macho residente, entonces este “acomodará” su respuesta vocal (Brenowitz y Rose, 1994). De esta forma, los machos pueden continuar emitiendo llamadas de advertencia, ante la presentación repetida de llamadas de otro macho con intensidades constantes por sobre su umbral agresivo (Rose y Brenowitz, 1997). Es así entonces que la acomodación permite a un macho minimizar el costo de llamar agresivamente, ajustando su umbral agresivo para la llamada de advertencia, de acuerdo con los cambios en la intensidad e invarianza detectada de las llamadas de los vecinos. Generalmente, estos cambios en las interacciones acústicas se acompañan de cambios en el espaciamiento de los machos (Brenowitz y Rose, 1994).

Desde el punto de vista conductual a este fenómeno se le denomina “efecto del enemigo querido”, que consiste de un nivel relativamente más bajo de agresión del propietario de un territorio hacia un vecino establecido en el territorio en comparación con un individuo no familiar (Bee, 2003).

De esta forma, la acomodación se refiere a la capacidad de modificar los umbrales agresivos frente a la interacción repetida entre machos y el efecto del enemigo querido representa las consecuencias funcionales de estas interacciones, siendo entonces la acomodación un mecanismo por el cual se establece el efecto del enemigo querido (Rose y Brenowitz, 1997; Bee y Gerhardt, 2001).

1.2 Sistema auditivo y producción vocal

En décadas recientes, se ha conocido en gran detalle el proceso de detección, transmisión y procesamiento de los estímulos acústicos a nivel periférico y del sistema nervioso central.

Muchos anuros adultos presentan una membrana timpánica en el oído medio. Esta membrana está conectada por la columela y extracolumela, a la ventana oval de la capsula ótica. Así, las vibraciones captadas por la membrana timpánica pueden ser transmitidas al fluido del oído interno (Fig. 2) (Wilczynski, 1992).

Los anuros presentan dos órganos auditivos principales, la papila anfibia (PA) y la papila basilar (PB) (Wilczynski y Capranica, 1984), siendo la PA semejante a la cóclea de los mamíferos (Lewis y Lombard, 1988), más sensible a sonidos de frecuencia más baja (de menos de 100 Hz a alrededor de 1,2 KHz) que la PB. La sintonización de la PB es especie-específica (Wilczynski, 1992). Ambas papilas contienen células receptoras que conectan con el octavo nervio craneal (Zakon y Wilczynski, 1988). Este nervio transmite la información al núcleo dorsolateral de la médula espinal, desde donde neuronas aferentes la conducen bilateralmente al núcleo olivar superior. Desde este núcleo la información es transmitida al *torus semicircularis* (Wilczynski, 1992), que es un núcleo mesencefálico, homólogo al colículo inferior de los mamíferos y constituye el principal centro de integración y procesamiento auditivo (Rose y Gooler, 2007). Luego,

la información llega a los núcleos talámicos y al hipotálamo, donde se modula el estímulo acústico, para que finalmente la información llegue al cerebro anterior, donde se genera una respuesta motora somática (orientación, locomoción, mantener una postura particular, etc.) y control visceral motor (Wilczynski, 1992).

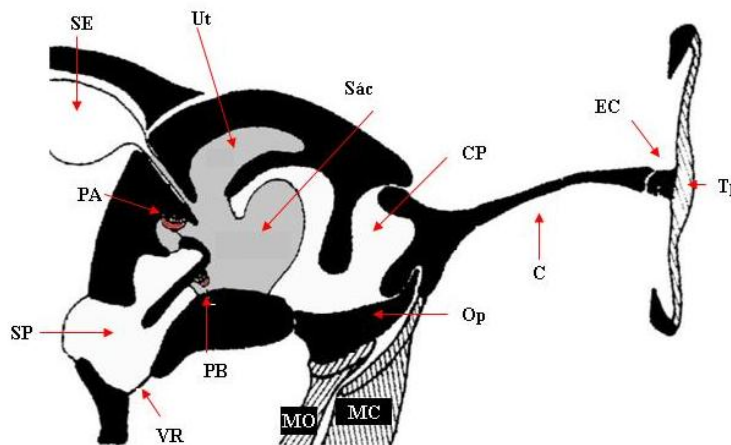


Figura 2: Esquema de los componentes del oído de un anuro, donde se señala: tímpano (Tp), columela (C), extracolumela (EC), opérculo (Op), músculo columelar (MC), músculo opercular (MO), papila basilar (PB), papila anfibia (PA), ventana redonda (VR), saco de perilinfa (SP), saco de endolinfa (SE), utrículo (Ut), sáculo (Sác) y cisterna de perilinfa (CP) (modificado de Wylczinski, 1992).

La producción vocal está muy relacionada con el sistema auditivo (Wilczynski, 1992). La producción vocal y sus estructuras implicadas son sexualmente dimórficas (Kelley, 1986). Los músculos responsables de la producción vocal son los oblicuos (internos y externos) de la pared corporal y los laríngeos (Martin y Gans, 1972). El trabajo de los músculos oblicuos hace que el aire pase entre los pulmones y el saco vocal. Además los oblicuos, al contraerse llevan el aire hacia la laringe, haciendo que vibren las cuerdas vocales (Girgenrath y Marsh, 1997).

A lo largo de todo el sistema de control y producción vocal, se encuentran receptores para andrógenos (Wilczynski, 1992).

1.3 Presentación del sujeto de estudio: *P. thaul*.

En el presente estudio se utilizó como sujeto experimental a machos de la especie *Pleurodema thaul* (Fig. 3). Esta especie es un anuro que pertenece a la familia Leptodactylidae y se distribuye desde Copiapó (27°22`S-70°20`W) por el norte hasta Aysén (45°30`S-70°20`W) por el sur (Díaz-Páez y Ortíz, 2001), desde el nivel del mar hasta los 1500 msnm. Se encuentra en lagunas, ríos y arroyuelos de riberas húmedas con vegetación abundante (Cei 1962).



Figura 3: Macho de *P. thaul* vocalizando con su saco inflado, mientras flota perchado en la vegetación.

P. thaul presenta un par de glándulas en posición dorsocaudal, las que asemejan un par de ojos, característica que le confiere el nombre vernáculo de “sapo de cuatro ojos”. Tiene la piel rugosa y una coloración variable. El tamaño longitud hocico-cloaca adulto de los machos oscila entre 21 y 32 mm y las hembras pueden alcanzar los 55 mm. Esta especie presenta dimorfismo sexual, caracterizado por la presencia en el macho del saco vocal, detectable por una coloración más oscura en la región ventral de la cabeza y callosidades pigmentadas del primer dedo de la mano, característica que se acentúa en el período reproductivo (Cei, 1962).

P. thaul en su dieta consume mayormente dípteros, fundamentalmente tipúlidos. Sin embargo, también consumen otros tipos de insectos, arácnidos y crustáceos (Díaz-Páez y Ortíz, 2003).

Este anuro tiene un prolongado período reproductivo, que se extiende desde junio a diciembre. La espermatogénesis se inicia en verano (febrero-marzo), donde los túbulos seminíferos se encuentran con abundantes espermátidas indiferenciadas, que se transforman en espermatozoides a medida que avanza el otoño (mayo-junio). La espermatogénesis se incrementa de julio a septiembre y se puede extender hasta noviembre. Las hembras presentan actividad vitelogénica bimodal. Una primera fase se inicia a fines de febrero con una maduración progresiva de los oocitos, alcanzado el estado post-vitelogénico entre junio y agosto. El período de apareamiento se establece entre estos meses y continúa hasta diciembre. En septiembre, algunas hembras parecen reiniciar la actividad vitelogénica, con una segunda fase que concluye a mediados de diciembre, cuando los oocitos que no han sido desovados, pasan masivamente al estado atrésico. En ambos casos, los cuerpos grasos muestran un aumento en forma sincrónica con la actividad gametogénica, coincidiendo con el período de mayor actividad reproductiva, por lo que se estima que son utilizados como reserva energética para la actividad vitelogénica (Díaz-Páez y Ortíz, 2001). Es durante esta fase del ciclo cuando los machos de *P. thaul* emiten su característica llamada de advertencia, mientras flotan en el agua apoyados en la vegetación acuática, con el cuerpo parcialmente sumergido y su saco vocal distendido (Díaz-Páez y Ortíz, 2003).

Su llamada de advertencia está dentro de las más prolongados que se conoce, con una duración promedio de 3,28 s. (0,8-8,0 s.) y compuesta por 30,8 (5-64) pulsos por llamada. Espectralmente, la llamada de *P. thaul* es simple, con una frecuencia dominante promedio alrededor de 2000 Hz (Penna y Veloso, 1990). La intensidad de las vocalizaciones de *P. thaul* presentan poca variación entre individuos en un coro. Esta relativa uniformidad está asociada con la homogénea calidad de los cuerpos de agua, donde el sonido se propaga sobre una continua superficie de agua con escasa vegetación emergente (Penna y Solís, 1998).

Los machos de *P. thaul* no producen una llamada agresiva específica, por lo que durante las interacciones agresivas modifican su llamada de advertencia. Durante la presentación del estímulo, las llamadas contienen pulsos prolongados de hasta 9 modulaciones de amplitud. Al cesar el estímulo los pulsos son más breves, compuestas

por 4 a 5 modulaciones de amplitud (Penna y Solís, 1992). Además, su repertorio incluye una llamada de liberación (Penna y Veloso, 1982).

Recientemente, se ha demostrado que existe una correspondencia entre los umbrales acústicos, que son las intensidades mínimas de un estímulo que evocan respuestas, a nivel conductual y del sistema nervioso central en esta especie (Penna *et al*, 2008). Sin embargo, no se ha determinado el umbral de intensidad que produce la modificación de su llamada de advertencia en interacciones agresivas.

En este estudio se determinó el umbral de intensidad acústica que evoca respuestas agresivas, mediante experimentos de respuesta vocal evocada (“playback”).

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto de la intensidad de estimulación acústica en la llamada de advertencia de los machos de *P. thaul*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar las variaciones en los componentes temporales de la respuesta vocal evocada de los machos de *P. thaul*, al ser estimulados con señales de diferentes intensidades.
- Determinar el valor umbral de intensidad a partir del cual se modifica la llamada de advertencia de los machos de *P. thaul*.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Sitio de estudio

La investigación se realizó en la localidad de Los Maitenes (Lat. 34°40'39''S, Long. 71°26'00''W), comuna de Santa Cruz, en la región del Libertador General Bernardo O'Higgins, zona de secano costero, durante el mes de noviembre del año 2007. En este lugar se encuentra una población de *P. thaul*, que se distribuye a lo largo de un arroyuelo de aguas someras (Fig. 4).



Figura 4: Vista panorámica del sitio de estudio.

Los experimentos de estimulación y registro acústico, se realizaron entre las 21:00 y 02:00 horas, período en el cual los machos vocalizan activa y regularmente.

2.2 Síntesis de estímulos

Se crearon imitaciones sintéticas de la llamada de advertencia de *P. thaul* con el programa computacional Soundmaker 1.0.4 (ver detalles en Penna *et al.* 2008). Se fabricaron cuatro versiones de esta llamada para utilizarlas como estímulos. Debido a

que la estructura temporal de esta señal es dependiente de la temperatura del agua, ya que el número de los pulsos y su frecuencia se relacionan positivamente con esta variable, las características temporales de cada una de ellas fueron ajustadas a las temperaturas de 13, 15, 17 y 19 °C, respectivamente. Los cálculos se realizaron de acuerdo a ecuaciones de regresión previamente establecidas (Solís, 1994). De esta forma, se contó con una batería de estímulos que cubrió el rango de temperatura que se registra durante la época en que se realizó el estudio. Estos estímulos fueron grabados en diferentes pistas de un disco compacto para estimular a los sujetos en terreno.

2.3 Sistema experimental y protocolo de estimulación

Al inicio de los experimentos, se procedió a ubicar un macho que estuviese cantando activamente y relativamente aislado de otros machos. En algunos casos, fue necesario remover a aquellos vecinos más próximos, que podrían interferir durante la estimulación. A continuación, se midió la temperatura del agua para seleccionar el estímulo acústico más adecuado a la temperatura registrada.

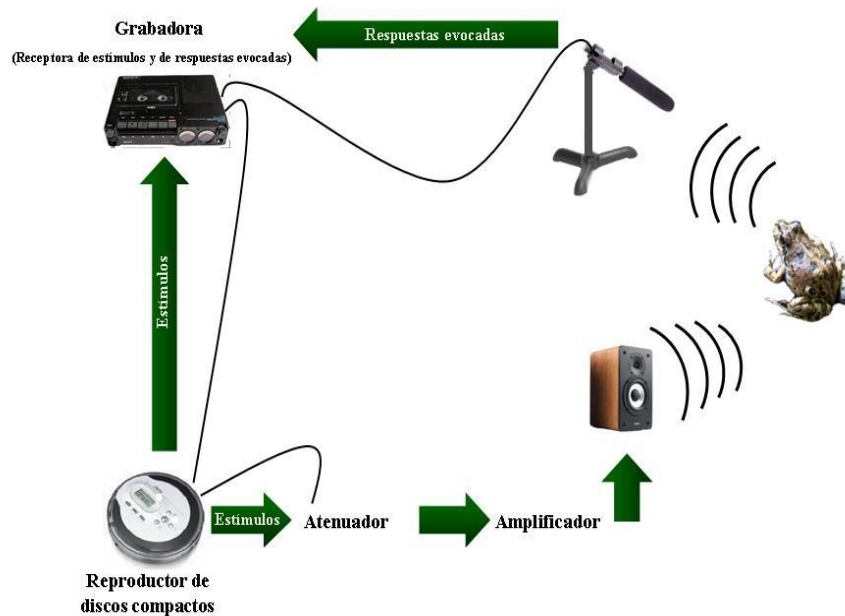
El estímulo fue emitido por un reproductor de discos compactos (Sony Walkman) conectado un atenuador (Hewlett-Packard 355 C y D), a un amplificador (Alpine 3540) y a un parlante. Una de las salidas del reproductor de discos compactos se conectó al canal derecho de una grabadora estéreo (con dos entradas en línea) Sony TC-D5M para grabar el estímulo. La respuesta vocal evocada del sujeto experimental fue grabada en el canal izquierdo de la misma grabadora (Fig. 5).

Durante los experimentos en el sitio de estudio, el parlante fue situado a 1 m del sujeto experimental. La respuesta vocal evocada de los sujetos experimentales fue grabada con un micrófono direccional (Sennheiser ME 66), posicionado a 20-40 cm en frente de ellos. El micrófono estuvo conectado al canal izquierdo de la grabadora Sony.

Previo al inicio de la presentación del protocolo de estimulación con el estímulo escogido, se ajustó la intensidad de éste mediante un sonómetro (Bruel y Kjaer 2230) hasta alcanzar los 70 dB RMS SPL (RMS: “root mean square”, SPL: “sound pressure level”) en la posición del sujeto experimental. Este nivel de intensidad corresponde al

valor promedio de intensidad de las llamadas de los vecinos más cercanos, a la que los machos de esta especie están expuestos en agregaciones corales (Penna y Solís, 1998).

a)



b)



Figura 5: a) Esquema que muestra el sistema de registro utilizado en los experimentos de estimulación. Los estímulos, generados en un reproductor de discos compactos, pasaron por atenuadores y un amplificador, antes de ser emitidos por un parlante. Las respuestas vocales evocadas fueron registradas en

una grabadora (canal izquierdo), donde también se registraron los estímulos (canal derecho). **b)** Disposición y operación del sistema de estimulación y registro en terreno.

El ajuste de la intensidad de sonido en la posición del sujeto experimental fue hecho con un sonómetro, posicionando su micrófono 5-10 cm sobre el sujeto y apuntando hacia abajo. Para estos ajustes, el estímulo fue emitido brevemente por unos pocos segundos para minimizar los efectos sobre la posterior actividad vocal del sujeto. A continuación, se realizó una grabación de al menos 90 segundos, durante la cual no se emitió el estímulo, con el fin de registrar la actividad vocal espontánea del sujeto experimental. Finalizado este registro y a continuación, se presentaron tres repeticiones del estímulo por el parlante, con una intensidad de 70 dB RMS SPL en la posición del sujeto experimental. Estas repeticiones del estímulo permitieron probar la sensibilidad y respuesta del sujeto a los ajustes experimentales. Después de estas presentaciones, el nivel de intensidad de los estímulos fue disminuido a niveles bajo el umbral de respuesta (<43 dB RMS SPL; Penna *et al*, 2008) y a partir de este valor subumbral, el estímulo fue presentado a intensidades crecientes, con incrementos de 3 dB, hasta alcanzar intensidades de 97-100 dB RMS SPL, en la posición del sujeto experimental. Estas últimas intensidades son las máximas posibles de emitir con el equipo, sin producir distorsión de estímulo acústico. Se emitieron tres repeticiones del estímulo por cada nivel de intensidad, espaciados temporalmente por un intervalo equivalente al doble de la duración del estímulo, con el fin de dejar tiempo a la respuesta del sujeto experimental. El experimento terminó con una presentación del estímulo a 70 dB RMS SPL, a modo de control (Fig 6).

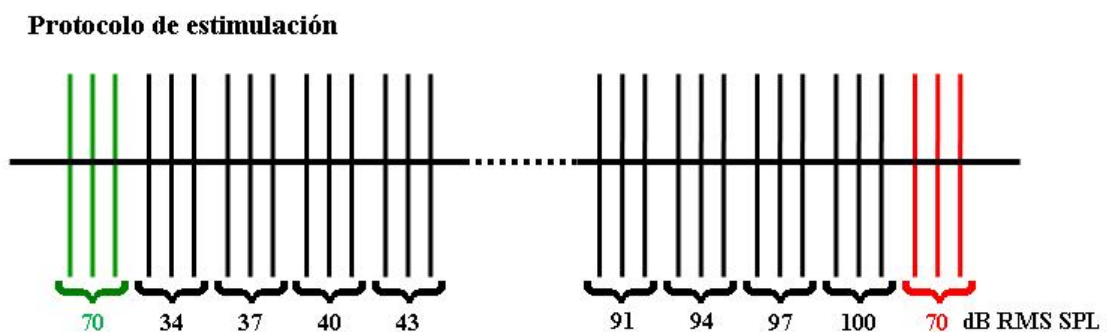


Figura 6: Protocolo de estimulación: consta de una serie de 3 repeticiones del estímulo por cada nivel de intensidad, en una progresión creciente, comenzando y terminando con una presentación del estímulo a 70 dB.

Los sujetos experimentales fueron capturados y liberados al finalizar la permanencia en terreno, para evitar grabar al mismo individuo.

2.4 Análisis acústico

Las cintas con los registros acústicos obtenidos en terreno fueron almacenadas y digitalizadas en formato AIFF en un computador Macintosh Power PC 8600/300, usando el programa computacional SoundEdit 16.

Las respuestas vocales fueron analizadas con el programa Signalyze 3.12. Se midieron las siguientes variables: latencia (tiempo transcurrido entre el inicio del estímulo y el primer pulso evocado) de la respuesta a la intensidad del umbral acústico (LUAc) y agresivo (LUAg), duración y número de pulsos de la respuesta vocal evocada (llamada), duración de pulso y número de modulaciones de amplitud por pulso (Fig. 7).

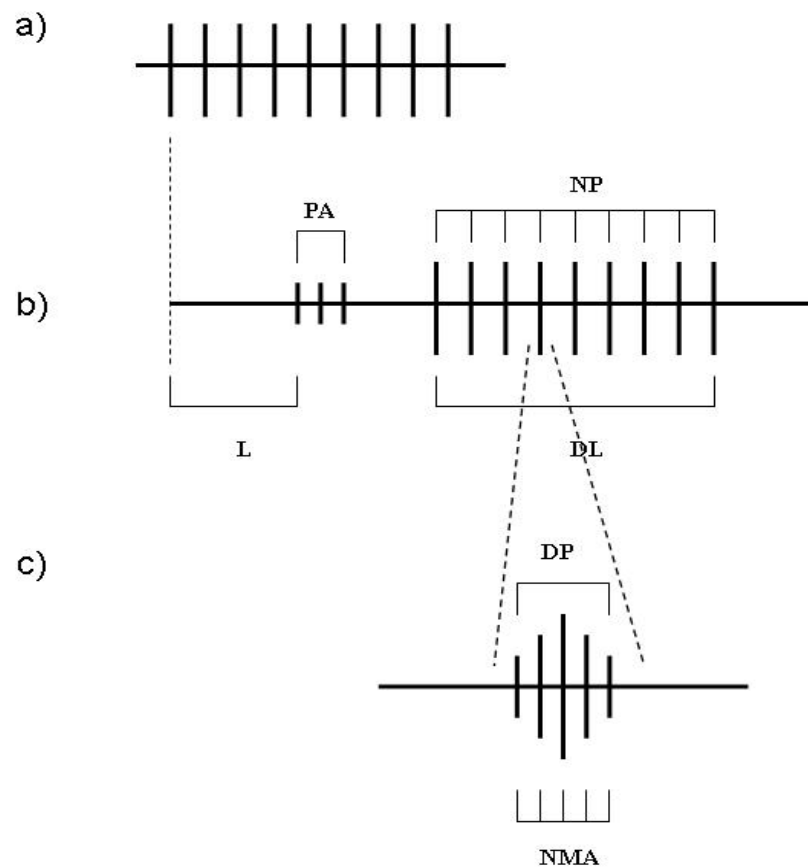


Figura 7: Esquemas de oscilogramas con diferente velocidad de barrido: **a)** Estímulo; **b)** Respuesta vocal evocada, donde se muestran las variables medidas en este estudio: latencia de respuesta (L), duración de

llamada (DL), número de pulsos de la llamada (NP); c) Pulso aislado, en donde se midió: duración de pulso (DP) y número de modulaciones de amplitud por pulso (NMA). PA: representan pulsos aislados previos a la llamada regular. Cuando éstos no se presentaron, la latencia se midió hasta el inicio de la llamada regular.

Una vez obtenidos los valores para las variables antes mencionadas se correlacionaron entre sí, con los umbrales acústicos y agresivos, observados en el estudio y con el rango de intensidad definido por estos umbrales (rango interumbral). Para estos fines se utilizó la prueba de correlación no paramétrica de Spearman (r_s). Se consideró como umbral acústico a la mínima intensidad a la cual los individuos experimentales emitieron una respuesta vocal evocada parcial (unos pocos pulsos aislados) o una llamada regular, a al menos una de las tres repeticiones del estímulo.

3. RESULTADOS

Se obtuvo un registro total de ocho machos de *P. thaul*. Sin embargo, al analizar las grabaciones se desecharon los dos primeros individuos sometidos al protocolo experimental, por deficiencias técnicas del registro acústico, que hacían inviable su análisis. En forma similar, el bajo número de llamadas espontáneas no permitió realizar un análisis comparativo de las características de estas llamadas con las respuestas vocales evocadas.

La temperatura del agua durante los experimentos presentó una restringida variación (15–18,5 °C). La duración promedio de la llamada de los individuos registrada en este estudio, durante la aplicación del protocolo de estimulación fue de 3,4 s (rango= 0,5-11,6 s). Así mismo, el promedio de pulsos por llamada fue de 36,4 (rango= 6-96). Durante el desarrollo del experimento, se observó que al aumentar la intensidad, la mayor parte de los machos traslaparon su respuesta con el estímulo. De esta forma, se pudo distinguir dos porciones de la respuesta evocada: una traslapada con el estímulo y otra no traslapada (porción final) con el estímulo, sin embargo además se observaron respuestas completamente traslapadas y completamente no traslapadas con el estímulo (Fig. 8).

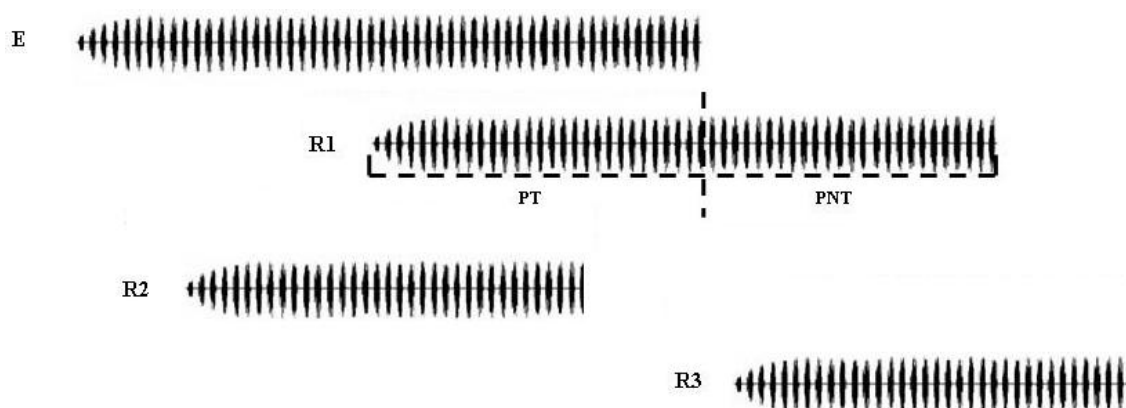


Figura 8: Esquema de un estímulo (E) y de los tipos de respuestas observados. R1: respuesta con traslape parcial (52,4% de las respuestas), en la cual se señala la porción traslapada (PT) y la porción no traslapada (PNT) con el estímulo. R2: respuesta traslapada completamente (20,7% de las respuestas). R3: respuesta completamente no traslapada (26,9% de las respuestas).

Al analizar la llamada en ambas porciones, en aquella traslapada con el estímulo se observó una duración promedio de 2 s (0,1-5,6) y un número de pulsos de 21,5 (1-56). En tanto que, en la porción no traslapada con el estímulo, la duración promedio observada fue de 2,3 s (0,1-9,9) y 25,1 (1-81) número de pulsos (tabla 1). Como se puede apreciar, existe una diferencia entre la suma de los valores promedio de las variables, medidos en ambas porciones, con el promedio de las mismas, determinado a partir de la respuesta vocal evocada considerada como una sola unidad. Esto se debe a que al calcular los promedios para la porción traslapada de la llamada, se consideraron las llamadas en que se observó el traslape parcial y completo. Es decir, aquellas llamadas que se iniciaron durante la presentación del estímulo y terminaron con posterioridad a su finalización y aquellas que ocurrieron completamente durante la presentación del estímulo. En forma similar, para el cálculo de la porción no traslapada (porción final) con el estímulo, se consideraron las llamadas en que se observó el traslape parcial y ausencia total de éste.

Tabla 1: Promedios (X) de la duración (s) y número de pulsos de las respuestas evocadas y sus porciones (traslapada y no traslapada con el estímulo) y sus respectivas desviaciones estándar (DS) (n=6).

	Respuesta vocal total		Respuesta vocal Porción traslapada		Respuesta vocal Porción no traslapada	
	X	DS	X	DS	X	DS
Duración (s)	3,4	4,3	2	1,3	2,3	4,5
Nº de pulsos	36,4	19,6	21,5	12,8	25,5	16,1

El protocolo de estimulación comenzó con la reproducción de tres repeticiones del estímulo sintético de la llamada de *P. thaul* a 70 dB RMS SPL, intensidad a la cual todos los machos registrados emitieron respuestas vocales, lo cual verificó la aplicabilidad del protocolo de estimulación utilizado.

Los resultados indican la existencia de una gran variabilidad en los valores de los umbrales acústicos, que fluctuaron entre los 34 y 55 dB RMS SPL.

Se observó que a la intensidad de 55 dB RMS SPL del estímulo, todos los machos emiten respuestas vocales evocadas. Por otra parte, a partir de los 82 dB RMS SPL de intensidad del estímulo presentado, disminuyó el número de machos que emiten respuestas vocales evocadas, de seis individuos a cuatro. En el rango de intensidad del estímulo de 55-79 dB RMS SPL, se encuentra el máximo número de machos que emiten respuestas vocales evocadas al protocolo de estimulación (Fig. 9).

A intensidades variables, iguales o superiores a la determinada como umbral acústico (37-55 dB RMS SPL), los machos traslapan una porción variable de sus respuestas con el estímulo.

Para fines comparativos de las respuestas, las variables duración, número de pulsos de la llamada y tasa de pulsos (pulsos/s) fueron normalizados con respecto a los correspondientes valores máximos observados en cada individuo. Es decir, para cada uno de ellos, los valores de cada variable se dividieron por el máximo valor medido de esa variable.

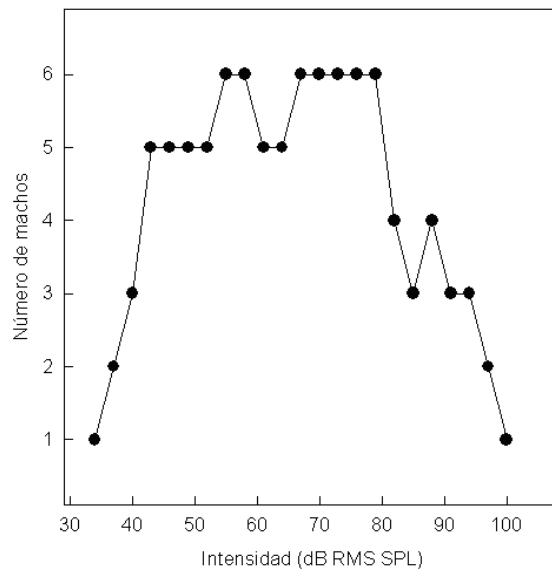


Figura 9: Gráfico en el que se representa el número de machos que responden al estímulo conforme aumenta la intensidad de éste. El máximo número de machos respondiendo, se alcanza entre los 55 y 79 dB RMS SPL.

En los gráficos de duración y número de pulsos de la llamada versus intensidad, se observa una forma de “U” invertida, en que los valores de estas variables aumentan con la intensidad del estímulo, alcanzando un máximo para luego disminuir y caer a cero (el macho cesa sus respuestas al estímulo) o se mantiene en el máximo hasta finalizar el protocolo de estimulación (Fig. 10). Esta misma tendencia observada para estas variables, se repiten al analizar las paciones traslapada y no traslapada con el estímulo de la llamada. En cuanto a la tasa de pulsos por llamada (número de pulsos/s), no se observa una variación significativa con la intensidad de la estimulación, al comparar este parámetro, utilizando la prueba de Wilcoxon entre las respuestas normalizadas de los machos, emitidas a 55 y 79 dB RMS SPL ($Z= 0,944$, $p= 0,345$), ni en sus porciones ($[Z= 1,363$, $p=0,173$, traslapada]; $[Z= 1,782$, $p= 0,074$, no traslapada]). Se utilizaron estas intensidades del estímulo para comparar, debido a que los 55 dB RMS SPL corresponden a la mínima intensidad en la que todos los machos emiten respuestas y 79 dB RMS SPL, porque es la intensidad máxima en la cual los seis machos responden al estímulo.

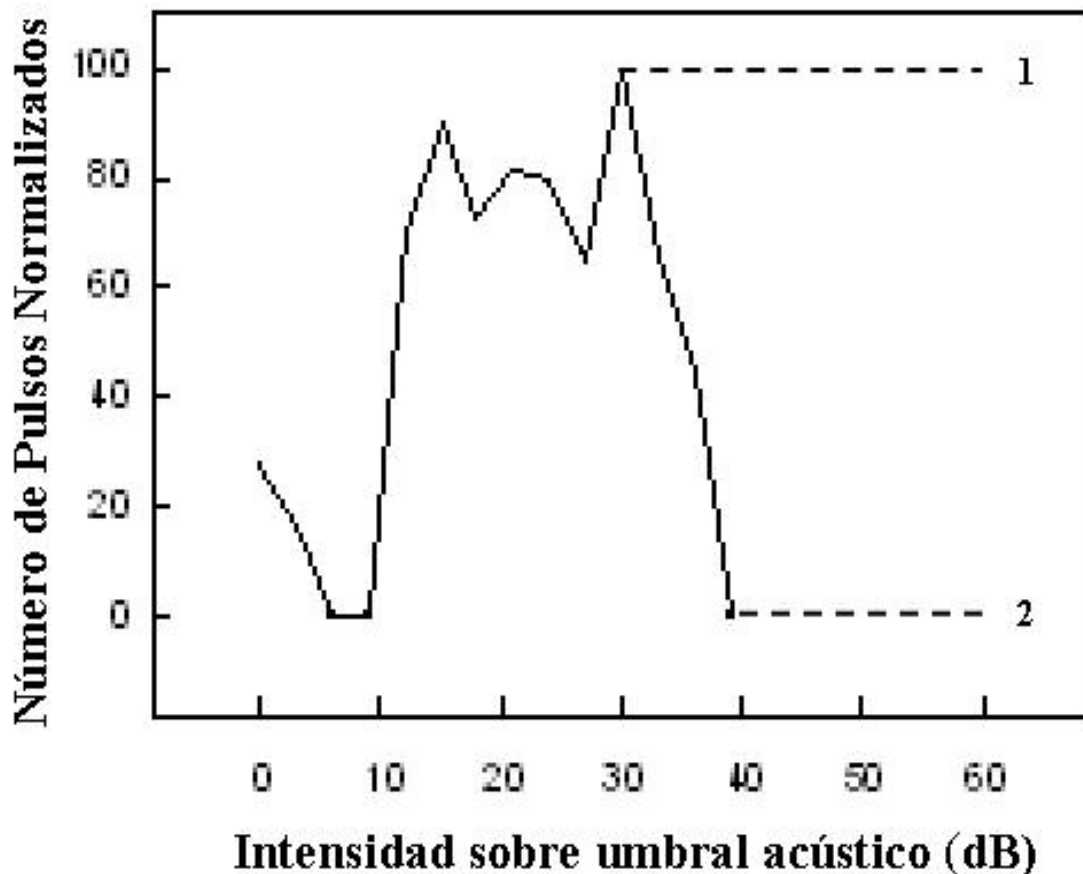


Figura 10: Variación representativa del número de pulsos conforme aumenta la intensidad del estímulo expuesto en un individuo (macho 5) y respuestas alternativas observadas, donde las líneas punteadas 1 y 2 representan a los machos que mantuvieron su respuesta hasta el final del protocolo de estimulación y a los que luego de alcanzar un máximo disminuyeron los números de pulsos hasta cero, respectivamente

Debido a que el umbral de intensidad que evoca una respuesta vocal varía entre individuos, para fines comparativos se estandarizaron los resultados, considerando 0 dB a esta intensidad umbral.

Al realizar un análisis más detallado de la llamada en función de su traslapo con el estímulo, se observó que la duración de pulso promedio en la porción traslapada fue de 0,05 s (0,04-0,1 s) y no presenta un patrón discernible. Por otra parte, se observa que la duración de pulso en la porción no traslapada tiene en promedio 0,04 s (0,04-0,08 s) y presenta un patrón tal que, dado cierto valor de intensidad acústica del estímulo presentado, disminuye y luego permanece constante hasta que el macho cesa en su respuesta o hasta terminar el protocolo de estimulación a los 100 dB RMS SPL (Fig. 11). En todos los machos, la duración de pulso termina permaneciendo constante en 0,04 s en la porción no traslapada. Este descenso en la duración de pulso ocurre a intensidades variables para los distintos machos, teniendo un rango que va desde los 12 a los 42 dB por sobre el umbral acústico. Este cambio constituye la primera modificación que experimenta la llamada de advertencia de los machos. El otro parámetro medido en ambas porciones fue el número de modulaciones de amplitud por pulso (Tabla 2). En la porción traslapada el número de modulaciones de amplitud por pulso promedio fue de 5,8 (Rango= 4-10) y no presentó un patrón discernible. En cambio, en la porción no traslapada, el número de modulaciones de amplitud por pulso promedio fue de 5 (Rango= 4-9) y a partir de un valor de intensidad acústica del estímulo particular para cada macho, disminuyen hasta que el macho cesa en su respuesta o hasta terminar el protocolo de estimulación. El punto de inflexión, en donde disminuye este parámetro también varía entre machos y va desde los 21 a los 42 dB por sobre el umbral acústico. Esta disminución en el número de modulaciones de amplitud, constituye la segunda modificación significativa que experimenta la llamada de advertencia de los machos.

Dado que el cambio de la duración de pulso con la intensidad, en la porción no traslapada, es el primer cambio más conspicuo entre los parámetros temporales que se midieron, se utilizó este cambio como criterio para determinar el umbral agresivo. La

segunda modificación de la llamada se manifiesta en el número de modulaciones de amplitud y ocurre a intensidades de estimulación ligeramente mayor.

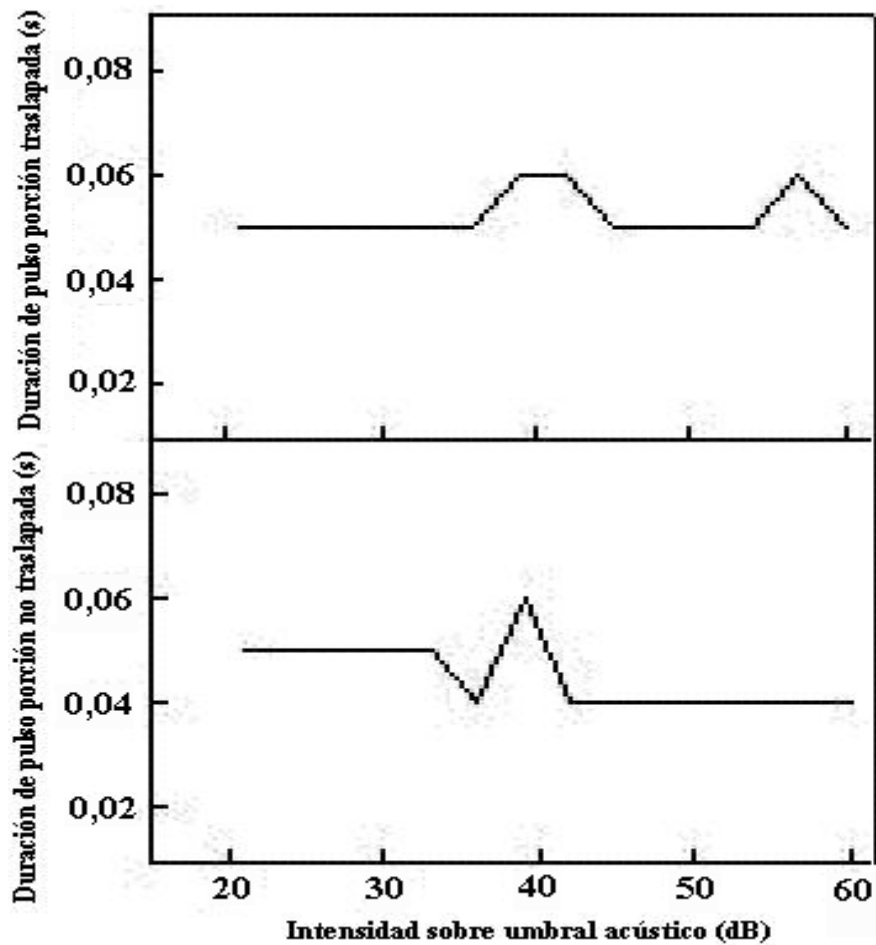


Figura 11: Gráficos de la duración de pulso promedio (s), en la porción traslapada (arriba) y en la no traslapada (abajo), en relación con la intensidad normalizada (dB), de un individuo típico (macho 8). En la porción traslapada la duración de pulso es oscilante conforme aumenta la intensidad del estímulo expuesto y no presenta un patrón discernible entre machos. En el caso de este individuo la duración de pulso aumenta a intensidades intermedias y altas según aumenta la intensidad del estímulo expuesto. En cambio, la duración de pulso en la porción no traslapada se hace menor a intensidades más altas, como se observa en este macho, en donde además se observa un intervalo de intensidades (33-42 dB) en que ocurre una transición de mayor a menor duración de pulso.

Tabla 2: Promedio (X) de duración de pulso (s) y número de modulaciones de amplitud por pulso de ambas porciones (traslapada y no traslapada con el estímulo) y sus respectivas desviaciones estándar (DS) (n=6).

	Porción traslapada		Porción no traslapada	
	X	DS	X	DS

Duración pulso (s)	0,05	0,01	0,04	0,01
Nº modulaciones de amplitud	5,8	1	5	0,7

Habiendo establecido los umbrales agresivos de los machos, se procedió a realizar las correlaciones mencionadas anteriormente (material y métodos), mediante una prueba de Spearman (r_s). Sólo cuatro de estas correlaciones resultaron significativas:

- La LUAg, se relacionó de manera inversa ($r_s = -0,928$, $p = 0,008$) con el umbral agresivo es decir, mientras mayor sea la intensidad requerida para gatillar un cambio en los parámetros temporales de la llamada, que caracteriza la respuesta agresiva de *P. thaul*, la latencia de respuesta a la intensidad del umbral agresivo va a ser menor.
- La relación entre el umbral acústico y el agresivo fue inversa ($r_s = -0,824$, $p = 0,044$). Esto significa que mientras menor es la intensidad del umbral acústico, es decir, aquella que evoca una respuesta en un individuo, mayor será la intensidad requerida para gatillar una respuesta agresiva.
- A partir de la correlación anterior, se infiere que el rango interumbral y el umbral agresivo, será más extenso conforme aumente el umbral agresivo ($r_s = 0,824$, $p = 0,043$).
- Por otra parte, la correlación entre la LUAc con la intensidad del umbral agresivo mostró una relación solo marginalmente significativa ($r_s = 0,754$, $p = 0,083$). Sin embargo, debido a la variabilidad del umbral acústico, se procedió a correlacionar esta misma latencia con la diferencia entre el umbral agresivo y acústico, el cual como se señaló anteriormente, asigna el valor 0 dB al umbral acústico de cada macho. Esta correlación resultó ser significativa ($r_s = 0,811$; $p = 0,049$).

4. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio muestran que los machos de *P. thaul* presentan una gran variabilidad en los valores umbrales de intensidad de estimulación, que evoca una llamada de advertencia y una de tipo agresivo. Los valores de los umbrales acústicos obtenidos en esta investigación (34-55 dB RMS SPL) concuerdan muy bien con los reportados previamente (31-52 dB RMS SPL), en un estudio similar (Penna *et al*, 2008). En este estudio, también se observó un amplio rango de valores para el valor umbral acústico.

Por otra parte, al incrementar la intensidad de estimulación, se observó en todos los machos una modificación de la estructura temporal de su llamada de advertencia, de ocurrencia característica en las interacciones agresivas de esta especie (Penna y Solís, 1992). Sin embargo, en el presente trabajo se observó que los cambios reportados por Penna y Solís (1992), pueden ocurrir incluso a intensidades menores que las utilizadas por ellos en sus experimentos de estimulación. No obstante, ambos estudios no son absolutamente comparables, debido a que en el citado trabajo solo se utilizaron dos intensidades (alta y baja), en lugar de una escala de intensidades como en este estudio.

Considerando el conjunto de machos analizados, se determinó que la modificación de la llamada de advertencia ocurre entre los 12 y 42 dB por sobre el umbral acústico, a intensidades absolutas que van de los 61 a los 79 dB RMS SPL. Estos valores permiten inferir que cada macho presenta un rango de intensidades dentro del cual puede interactuar acústicamente con otros individuos de manera no agresiva. Una vez superado el valor máximo de este rango, los machos modificarían la estructura temporal de su llamada de advertencia. Como el incremento de intensidad del estímulo experimental simula el acercamiento de un macho (intruso) a la ubicación del macho estimulado (residente), la variabilidad observada en los valores de intensidad que producen la modificación de la estructura de la llamada, corresponden a diferentes grados de “tolerancia” individual al acercamiento. Para investigar si existe flexibilidad en la tolerancia, es decir, si los machos de *P. thaul* dejan de emitir respuestas agresivas

luego de ser estimulados repetidamente a intensidades superiores a su umbral agresivo, en forma similar al fenómeno de “acomodación” observado en *Hyla regilla* (Rose y Brenowitz, 1997), al igual que la constatación del efecto del “enemigo querido” (Bee, 2003), se hubiera requerido realizar una estimulación más prolongada a aquellas intensidades umbrales a las cuales se verificó la alteración de la llamada de este anuro.

Debido a que el rango de umbrales agresivos entre los machos fue amplio (30 dB), aún más amplio que el medido para umbrales acústicos (rango= 21 dB) y tomando en cuenta que los sujetos experimentales fueron sometidos al mismo tratamiento, esta gran diferencia en los valores de sus umbrales agresivos se debería a factores internos de cada individuo. En este caso, factores externos al individuo, como la temperatura del agua, que pueden influir en las respuestas de los machos, no son relevantes ya que las temperaturas registradas durante el desarrollo del trabajo en terreno fueron estables (15-18,5 °C).

El nivel de hormonas circulantes podría ser uno de estos factores fisiológicos que influyen en el umbral agresivo, especialmente los andrógenos. Como es sabido, los andrógenos están implicadas en el desarrollo de las estructuras involucradas en el proceso de la producción vocal en anuros (Emerson, 2001). Existen estudios que demuestran que los andrógenos afectan el ordenamiento espacio-temporal de los potenciales de acción de neuronas que coordinan las emisiones vocales sociales (Bass y Ramage-Healy, 2008). A pesar de esto último, el rol de las hormonas como moduladoras de la percepción y emisión de vocalizaciones ha sido poco explorado (Al-Manna *et al*, 2008). No obstante, está claramente demostrado el control hormonal de la conducta vocal para diferentes especies de anuros (Penna *et al*, 1992). Diversos estudios indican que en los anfibios machos, la testosterona, dihidrotestosterona y el neuropéptido argininasotocina, son los factores hormonales predominantes en la regulación de la conducta sexual (Moore y Deviche, 1988) y vocal. En machos de *Batrachyla taeniata* estimulados con una imitación sintética de su llamada de advertencia, existe una relación positiva entre los niveles de andrógenos y el número de llamadas emitidas (Solís y Penna, 1997). Además, la teoría del “modelo de vocalización hormona-energético” (Wells y Taigen, 1989), postula que las variaciones en la llamada de advertencia, representadas en sus características temporales (tasa de pulso, duración de la llamada, intensidad de la llamada y esfuerzo de llamada), se relacionan con la

variación de andrógenos y corticoides. Asimismo, los corticoides pueden disminuir la sensibilidad a andrógenos en algunas células y tejidos (Burnstein *et al*, 1995), afectando de esta manera la producción vocal y, probablemente también, la percepción del sonido y los umbrales de respuesta.

De los resultados encontrados se podría inferir que los individuos más agresivos podrían tener un nivel de andrógenos más alto y ser más sensibles al estímulo, lo que determinaría menores umbrales acústicos y agresivos. Sin embargo, al realizar un análisis de correlación entre ambos valores umbrales para cada macho, se obtuvo una relación inversa. Esta aparente contradicción podría deberse a un control hormonal independiente de los centros y vías que controlan la percepción del sonido y aquellos que regulan las interacciones sociales agresivas.

Una explicación similar podría aplicarse a los resultados de los análisis que correlacionaron los valores de latencia de respuesta vocal con los de umbral acústico y agresivo. No obstante, la latencia al umbral acústico se correlacionó positivamente con el valor del umbral agresivo, sugiriendo que los machos más reactivos son también aquellos más agresivos, manifestando una menor tolerancia a las aproximaciones de sus vecinos.

Finalmente, los resultados de este estudio, que determinó el umbral agresivo, complementan estudios anteriores sobre *P. thaul*, en los que se había determinado su umbral acústico y la correspondencia que existe de éste a nivel conductual y del procesamiento auditivo. La información sobre la conducta vocal de esta especie, nos permite tener un mayor conocimiento sobre su conducta reproductiva y es de potencial importancia para su conservación.

5. CONCLUSIONES

De los resultados obtenidos en el presente estudio, se puede concluir que:

- Los machos de *Pleurodema thaul* de este estudio presentan un umbral agresivo a intensidades del estímulo de 12 a 42 dB por sobre el umbral acústico, lo cual corresponde al umbral agresivo.
- Las modificaciones más características de la llamada de advertencia, al aumentar la intensidad del estímulo expuesto es la disminución de la duración de pulso y del número de modulaciones de amplitud por pulso, en la porción no traslapada con el estímulo.

6. BIBLIOGRAFÍA

- **AL-MANA, D.; CERANIC, B.; DJAHANBAKHCH, O.; LUXON, L. M.** 2008. Hormones and the auditory system: a review of physiology and pathophysiology. *Neuroscience* 153:881-900.
- **BASS, A. H; REMAGE-HEALEY, L.** 2008. Central pattern generators for social vocalization: androgen-dependent neurophysiological mechanisms. *Hormones and Behavior* 53:659-672.
- **BEE, M. J.; GERHARDT, H. C.** 2001. Habituation as a mechanism of reduced aggression between neighboring territorial male bullfrog (*Rana catesbeiana*). *Journal of Comparative Psychology* 1: 68-82.
- **BEE, M. J.** 2003. A test of the “dear enemy effect” in the strawberry dart-poison frog (*Dendrobates pumilio*). *Behavioral Ecology and Sociobiology* 54: 601-610.
- **BRADBURY, J.; VEHRENCAMP, S.** 1998. Principles of animal communication. Ed. Sinauer Associates, Inc. Department of Biology, University of California, San Diego pp. 877-880.
- **BRENOWITZ, E. A.** 1989. Neighbor call amplitude influences aggressive behaviour and intermale spacing in choruses of the pacific treefrog (*Hyla regilla*). *Ethology* 83: 69-79.
- **BRENOWITZ, E. A.; ROSE, G. J.** 1994. Behavioral plasticity mediates aggression in choruses of the Pacific treefrog. *Animal Behavior* 47: 633-641.
- **BURNSTEIN, K.; MAIRONO, C.; DAI, J.; CAMERON, D.** 1995. Androgen and glucocorticoid regulation of androgen receptor cDNA expression. *Molecular and Cellular Endocrinology* 115: 177-186.

- **CEI, J. M.** 1962. Batracios de Chile. Ed. Universidad de Chile. pp 128.
- **DÍAZ-PÁEZ, H.; ORTÍZ, J. C.** 2001. The reproductive cycle of *Pleurodema thaul* (Anura, Leptodactylidae) in central Chile. *Amphibia-Reptilia* 22: 431-445.
- **DÍAZ-PÁEZ, H.; ORTÍZ, J. C.** 2003. Feeding habits of *Pleurodema thaul* (Anura, Leptodactylidae) in Concepción, Chile. *Gayana* 67 (1): 25-32.
- **DUSENBERY, D. B.** 1992. Sensory ecology, how organisms acquire and respond to information. W. H. Freeman & Co., Nueva York pp: 103.
- **EMERSON, S. B.** 2001. Male advertisement calls: Behavioral variation and physiological process. In: Ryan, M. J. (ed.). Anuran communication. Smithsonian Institution press, Washington pp: 36-41.
- **GERHARDT, H. C.** 1988. Acoustic properties used in call recognition by frogs and toads. In: Fritzsch, B.; Ryan, M. J.; Wilczynsky, W.; Hetherington, T. E.; Walkowiak, W. (eds.). The evolution of the amphibians auditory system. Wiley, New York pp 458-460.
- **GERHARDT, H. C.** 1991. Female choice in treefrogs: Static and dynamic acoustic criteria. *Animal Behavior* 42: 615-635.
- **GIRGENRATH, M.; MARSH, R.** 1997. *In vivo* performance of trunk muscles in tree frogs during calling. *Journal of Experimental Biology* 200: 3101-3108.
- **GRIER, J. W.; BURK, T.** 1992. Biology of animal behaviour. 2^a Edition. Mosby Year Book, Boston.
- **HAILMAN, J. P.** 1977. Optical signals: animal communication and light. Bloomington, Indiana University Press.

- **KELLEY, D. B.** 1986. Neuroeffectors for vocalization in *Xenopus laevis*: Hormonal regulation of sexual dimorphism. *Journal of Neurobiology* 17: 231-248.
- **KELLEY, D. B.** 2004 Vocal communication in frogs. *Current Opinion in Neurobiology* 14: 751-754.
- **KREBS, J. R.; DAVIES, N. B.;** 1993. An introduction to Behavioural Ecology. Oxford, Blackwell Scientific Publication.
- **LEWIS, E. R.; LOMBARD, M.** 1988. The amphibian inner ear. In: Fritzch, B.; Ryan, M. J.; Wilczynsky, W.; Hetherington, T. E.; Walkowiak, W. (eds.). The evolution of the amphibians auditory system. Wiley, Nueva York pp: 125-155.
- **LINDQUIST, E. D.; HETHERINGTON, T. E.** 1998. Semaphoring in an earless frog: the origin of a novel visual signal. *Animal Cognition* 1:83-87.
- **MARTIN, W.; GANS, C.** 1972. Muscular control of the vocal tract during release signaling in the toad *Bufo valliceps*. *Journal of Morphology* 137: 1-28.
- **MC GREGOR, P.** 2005. Communication. In: Bolhuis, J.J.; Giraldeau, L.A. (eds.). The behavioral of animals: mechanisms, function and evolution. Blackwell publishing, Nueva York pp: 242.
- **MOORE, F. L.; DEVICHE, P.** 1988. Neuroendocrine processing of environmental information in amphibians. In: Stetson, M. H. (ed.). Springer-Verlag. Processing of environmental information in vertebrates. Nueva York pp: 19-44.
- **PENNA, M.; VELOSO, A.** 1982. The warning vibration of pleurodema thaul. *Journal of Herpetology* 16: 408-410.
- **PENNA, M.; VELOSO, A.** 1990. Vocal Diversity in frogs of the south american temperate forest. *Journal of Herpetology* 24: 23-33.

- **PENNA, M.; CAPRANICA, R.; SOMERS, J.** 1992. Hormone-induced vocal behavior and midbrain auditory sensitivity in the green treefrog, *Hyla cinerea*. *Journal of Comparative Physiology A* 170: 73-82.
- **PENNA, M.; SOLÍS, R.** 1992. Canto nupcial evocado en el sapo de cuatro ojos *P. thaul*. IV Congreso Nacional y I Iberoamericano de ecología pp 34.
- **PENNA, M.; SOLÍS, R.** 1998. Frog call intensities and sound propagation in the South American temperate forest region. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 42: 371-381.
- **PENNA, M.; SOLÍS, R.; VELÁSQUEZ, N.** 2008. Correspondence between evoked vocal responses and auditory thresholds in *Pleurodema thaul* (Amphibia: Leptodactylidae). *Journal of Comparative Physiology A* 194 (4): 361-371.
- **RAND, A. S.** 1988. An overview of anuran acoustic communication. In: Fritzsch, B.; Ryan, M. J.; Wilczynsky, W.; Hetherington, T. E.; Walkowiak, W. (eds.). *The evolution of the amphibians auditory system*. Wiley, Nueva York pp 416-422.
- **ROSE, G.; BRENOWITZ, E.** 1991. Aggressive thresholds of male pacific treefrogs for advertisement calls vary with amplitude of neighbors' calls. *Ethology* 89: 244-252.
- **ROSE, G.; BRENOWITZ, E.** 1997. Plasticity of aggressive thresholds in *Hylla regilla*: discrete accommodation to encounter calls. *Animal Behavior* 53:353-36.
- **ROSE, G; GOOLER, D. M.** 2007. Function of the amphinian central auditory system. In: Narins, P. M.; Feng, A. S.; Fay, R. R.; Poper, A. N. (eds.). *Hearing communication in amphibians*. Springer, Nueva York, pp: 250-290.
- **SOLÍS, R.** 1994. Factores moduladores de las interacciones sociales acústicas de *Pleurodema thaul*. Tesis Doctoral Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp 65.

- **SOLÍS, R.; PENNA, M.** 1997 Testosterone levels and evoked vocal responses in a natural population of the frog *Batrachyla taeniata*. *Hormones and Behavior* 31: 101-109.
- **WELLS, K. D.** 1977. The social behavior of anurans amphibians. *Animal Behavior* 25: 666-693.
- **WELLS, K. D.; TAIGEN, T. L.** 1989. Calling energetics of a neotropical treefrog, *Hyla microcephala*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 19: 9-18.
- **WILCZYNSKI, W.; CAPRANICA, R. R.** 1984. The auditory system of anuran amphibians. *Progress in Neurobiology* 22: 1-38.
- **WILCZYNSKI, W.** 1992. The nervous system. In: Feder, M. E.; Burggren, W. *Environmental physiology of the amphibians*. The university of Chicago press, Chicago pp: 25-31.
- **WILSON, E. O.** 1975. *Sociobiology: the new synthesis*. Cambridge, MA: Belknap Press.
- **ZAKON, H. H.; WILCZYNSKI, W.** 1988. The physiology of anuran inner ear. In: Fritzch, B.; Ryan, M. J.; Wilczynsky, W.; Hetherington, T. E.; Walkowiak, W. (eds.). *The evolution of the amphibians auditory system*. Wiley, Nueva York pp: 125-155.