



**UNIVERSIDAD DE CHILE**



**FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

**INFLUENCIA DE LA UBICACIÓN ESPACIAL DE  
ESTÍMULOS ACÚSTICOS EN LA RESPUESTA VOCAL DEL  
ANURO *Pleurodema thaul* (AMPHIBIA, LEPTODACTYLIDAE)**

**ANDREA L. DE JESÚS PÉREZ IBACACHE**

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

**PROFESOR GUÍA: DR. RIGOBERTO SOLIS MUÑOZ**

**SANTIAGO, CHILE  
2008**

## RESUMEN

En los anfibios anuros, la comunicación acústica es ampliamente utilizada como medio de interacción social entre coespecíficos. En la época de apareamiento los machos conforman agregaciones o coros que atraen a las hembras y delimitan sus territorios. Este fenómeno lo podemos encontrar en varias especies de anuros tanto fosoriales como de ambientes abiertos. En Chile, los machos de *Pleurodema thaul* (*P.thaul*) emiten sus llamadas desde la superficie de charcos o pozas ubicados en espacios abiertos, por lo que constituyen un buen modelo para estudiar la conducta vocal de los anfibios que viven en estos ambientes.

El presente estudio tuvo como objetivo determinar si *P.thaul* discrimina la ubicación espacial de estímulos acústicos provenientes de ángulos de emisión distintos, pero con igual intensidad. Para este efecto se diseñó un protocolo experimental que consistió en la síntesis y emisión de los estímulos acústicos desde una distribución espacial previamente establecida.

El análisis de las respuestas vocales evocadas de 15 machos a este protocolo, no reveló la existencia de diferencias estadísticamente significativas, tanto en la latencia de respuesta como en el número de pulsos. Estos resultados sugieren que los machos no discriminan la dirección desde la cual son emitidas las llamadas de sus vecinos coespecíficos.

## SUMMARY

In amphibians anurans acoustic communication is widely used as a means of social interaction between conspecifics. During the mating season males form choruses aggregations producing calls to attract females and delimit their territories. These acoustic signals are emitted by species fossorial and species calling from water surface in open environments such as *Pleurodema thaul* do. Males of this chilean frog emitt their calls from the water surface while perched on aquatic vegetation in shallow waters of ponds and streams. Such ecological characteristics made of *P. thaul* a valuable model to study the male anuran vocal behavior in open environments.

The aim of this study was to determine whether *P. thaul* discriminates the spatial location of an acoustic stimuli presented from different positions at the same intensity. The experiments involved the design of an experimental protocol in which synthetic acoustic stimuli where presented to individual males in a pre-established spatial sequence and his evoked vocal responses were recorded.

The analyses of responses of 15 males showed no significant differences either in latency or number of pulses. These results suggest that males of *P. thaul* are not able to discriminate the spatial location of their neighbor's calls when emitted at the same intensity.

## ÍNDICE

INTRODUCCIÓN .....	1
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
HIPÓTESIS .....	8
OBJETIVO GENERAL .....	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	8
2. MATERIALES Y MÉTODOS .....	9
2.1 SITIO DE ESTUDIO .....	9
2.2 DISEÑO DE ESTÍMULOS.....	9
2.3 EXPERIMENTOS DE CAMPO .....	11
2.4 PROTOCOLO EXPERIMENTAL .....	13
2.5 ANÁLISIS DE LAS RESPUESTAS VOCALES EVOCADAS.....	14
3. RESULTADOS .....	15
4. DISCUSIÓN .....	21
5. CONCLUSIONES .....	25
6. BIBLIOGRAFIA .....	26
ANEXO .....	30

## INTRODUCCIÓN

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 apariencia o acciones de un animal influyen sobre el comportamiento de individuos de la misma especie o de especies distintas.

Para los anfibios anuros (sapos y ranas), la comunicación acústica es el principal medio de interacción social. Este grupo de vertebrados utiliza extensamente las señales acústicas, las cuales presentan diversas ventajas, como la propagación omnidireccional a largas distancias en ambientes estructuralmente complejos. Por otra parte, pueden dejar de ser emitidas rápidamente ante la amenaza de un depredador.

Durante la época reproductiva los machos anuros se reúnen en charcos y pozas, conformando agregaciones o coros en los que establecen territorios cuyos límites son regulados mediante la intensidad con que son percibidas las vocalizaciones de los vecinos. En el repertorio vocal de los anfibios anuros existen distintas vocalizaciones que son expresadas en diferentes circunstancias sociales, siendo la más conspicua la llamada de advertencia que emiten los machos que atrae a las hembras y señala a otros machos su presencia. Los componentes espectrales temporales y de intensidad, son procesados selectivamente en el sistema auditivo central y periférico.

Aunque existen varios estudios relacionados con diversos aspectos del sistema de comunicación en anuros y en particular acerca del reconocimiento y localización de señales por parte de las hembras, la capacidad de localización espacial de las llamadas por parte de los machos que interactúan vocalmente ha sido poco explorada.

Los machos de la rana toro de Norteamérica, *Rana catesbeiana* discriminan entre los cantos de sus vecinos habituales y cantos de individuos extraños, dando distintas respuestas vocales a estos diferentes estímulos. Además, dan distintas respuestas vocales a estímulos provenientes de distintas ubicaciones espaciales. Sin embargo, no se han realizado estudios acerca de la capacidad de los machos de otras especies de anuros para localizar una fuente acústica.

En esta Memoria de Título, se estudiaron las respuestas vocales evocadas de machos de *Pleurodema thaul*, al ser estimulados con señales acústicas desde diferentes ubicaciones espaciales. Este estudio contribuirá a establecer si la capacidad de localización demostrada para la especie norteamericana es generalizable a otros anuros.

## 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. En el reino animal, los canales de comunicación más preponderantes son los de tipo químico, visual y acústico (Bradbury y Vehrencamp, 1998).

La mayoría de los anfibios anuros emiten señales acústicas que desempeñan un papel importante en su comportamiento social, las cuales se clasifican de acuerdo a su función comunicativa en llamadas de apareamiento, de cortejo, de advertencia, territoriales y de liberación (Rand, 1988).

Por otra parte, la capacidad de localizar una fuente de sonido es importante en la vida de muchos animales, como los insectos, aves y mamíferos. En muchos de ellos esta capacidad permite la realización de varios comportamientos. Así, por ejemplo, la atracción sexual, establecimiento territorial, captura de presas y la relación de los padres con sus crías, en muchos casos requiere de la apropiada localización de una señal acústica. Para que esto ocurra, el sistema auditivo del animal debe ser capaz de extraer información sobre la ubicación y distancia de una señal acústica. Es así, como muchos animales han desarrollado diferentes mecanismos para la localización de una fuente de sonido en el espacio (Feng *et al.*, 1976).

En el caso de los anfibios anuros, la comunicación por sonido es el principal medio de interacción social y la mayoría de las señales acústicas están relacionadas con la reproducción. (Rand, 1988). Las señales acústicas sirven de guía a los anuros hacia los sitios de apareamiento y las vocalizaciones especie-específicas son usadas por los machos para delimitar sus territorios y además, permiten a las hembras orientarse y determinar la posición de los sujetos emisores (Eggermont, 1988; Bosch *et al.*, 2002b; Gerhardt y Huber, 2002).

Estas interacciones acústicas ocurren casi exclusivamente en la época reproductiva. Durante este período, la mayoría de los anuros se congregan en charcos y pozas, conformando coros, en los cuales los machos emiten cantos o llamadas de advertencia cuya estructura temporal y espectral es especie-específica. Estas señales atraen a las hembras y evocan respuestas vocales de otros machos. Las hembras y los machos responden preferentemente a las señales de la propia especie y esta selectividad de respuestas conductuales, obedece al procesamiento selectivo de patrones espectrales y temporales de las señales biológicas que realiza el sistema auditivo de los anuros (Capranica, 1978; Gerhardt, 1988; Feng y Schellart, 1999; Gerhardt y Huber, 2002).

Las propiedades espectrales de una señal están determinadas por las frecuencias que la componen (frecuencia dominante, frecuencia fundamental, frecuencias armónicas, etc.) y su patrón temporal, por las variaciones de amplitud en el tiempo (duración del canto, número y frecuencia de notas, número y frecuencia de pulsos, etc.). Además de estas características de la señal, su intensidad puede modificar las respuestas vocales evocadas de los machos a estímulos naturales o a imitaciones sintetizadas. Si el estímulo tiene una intensidad sobre cierto nivel umbral, los machos alteran la estructura de su llamada de advertencia o comienzan a producir llamadas agresivas (Brenowitz, 1989; Schwartz, 1989; Wagner, 1989).

La localización de las señales de coespecíficos en anuros, es especialmente importante para la orientación de las hembras en las agregaciones reproductivas. En diversas especies se ha visto que las hembras receptoras se orientan hacia un parlante que reproduce el canto de la propia especie, corrigiendo su orientación a medida que se aproximan a la fuente sonora (Klump y Gerhardt, 1989). En forma similar, los machos de algunas especies también pueden orientarse hacia otros individuos que vocalizan (Harrison y Littlejohn, 1985) o modificar sus respuestas vocales evocadas al cambiar la posición de un parlante con el que se reproduce una imitación sintetizada de su canto natural (Bee y Gerhardt, 2001).

Los mecanismos y procesos neurofisiológicos que participan en la localización de la fuente de estímulos acústicos son complejos, ya que el sonido no se proyecta de igual manera sobre la superficie sensorial de ambos oídos, como ocurre con los estímulos visuales sobre la retina (Knudsen *et al.*, 2000).

En los vertebrados terrestres, la separación de los oídos (distancia interaural) determina que las señales no sean percibidas en forma exactamente simultánea, produciéndose las denominadas diferencias de fase interaural. En forma similar, la separación de los oídos tiene como consecuencia que éstos perciban con diferente intensidad las características espectrales de un estímulo. Producto de lo anterior, la efectividad de un estímulo acústico, las diferencias interaurales de intensidad, tiempo de llegada y espectrales varían con la separación de los oídos y el tamaño de la cabeza (Knudsen *et al.*, 2000).

La detección de la dirección de donde provienen los estímulos acústicos depende de las propiedades del sistema auditivo periférico y central. En la periferia, el oído responde de manera diferente a estímulos provenientes de distintas localizaciones en el plano horizontal y estas respuestas dependen de la frecuencia del sonido. A frecuencias bajas, entre 50 y 500 Hz, las fibras del nervio auditivo responden mejor a estímulos provenientes de posiciones laterales en relación a sonidos que provienen de adelante o atrás del animal. A frecuencias más altas, las fibras responden más a estímulos ipsilaterales que contralaterales (Wang *et al.*, 1996). A nivel central, en el centro auditivo del mesencéfalo, en la zona del *torus semicircularis*, la mayoría de las neuronas son excitadas máximamente por tonos provenientes del lado opuesto al hemisferio registrado. Otras en tanto, responden máximamente a estímulos provenientes del frente del animal (Gooler *et al.*, 1996). No obstante, cuando la ubicación de la fuente sonora cambia de contralateral a ipsilateral, la selectividad a frecuencias y parámetros temporales de sonido aumenta progresivamente (Xu *et al.*, 1996). Este incremento en la selectividad espectral y temporal, dependiente de la dirección del sonido, contribuiría al reconocimiento de señales de significado biológico en ambientes acústicos complejos.

En el sur de Chile, existen especies fosoriales como *Eupsophus calcaratus*, que utilizan las cuevas como amplificadores de sonido, de modo que la propagación de las llamadas emitidas por los machos, es favorecida. Además, las llamadas de coespecíficos que cantan en la vecindad son amplificadas al interior de estas cavidades. La localización exacta de fuentes sonoras externas al interior de estas cavidades se ve dificultada, ya que las reflexiones de sonido producidas generan un ambiente de ondas estacionarias que dificulta la localización del sonido. En concordancia con esta situación, los machos de *E. calcaratus* dan respuestas vocales similares a estímulos presentados desde distintas posiciones al exterior de una cueva (Penna y Quispe, 2007).

Estos antecedentes permiten plantear que existen diferencias en la percepción direccional del sonido entre especies de anuros que emiten sus vocalizaciones y perciben la de sus coespecíficos desde el interior de cavidades y aquellos que lo hacen en espacios abiertos.

Dentro de las especies que vocalizan en espacios abiertos, se encuentra a *Pleurodema thaul* (sapito cuatro ojos Figura N° 1), especie perteneciente a la familia Leptodactylidae, que se distribuye ampliamente en Chile central. *P. thaul* se encuentra en la orilla de lagunas, ríos y arroyos con vegetación acuática abundante. Como en otras especies, estos anuros presentan dimorfismo sexual, caracterizado por la presencia, en el macho de saco vocal con una coloración más oscura en la garganta y callosidades pigmentadas del primer dedo de la mano (Ceï, 1962). El período reproductivo se extiende desde Junio a Diciembre (Díaz-Páez y Ortiz, 2001), época en la cual, los machos vocalizan desde la superficie del agua, en agregaciones reproductivas o coros (Figura N° 1).

Las vocalizaciones de *P. thaul*, por lo general, corresponden a llamadas de advertencia alrededor de seis segundos de duración en promedio y que están compuestas por numerosos pulsos de amplitud modulada y una frecuencia fundamental de alrededor de 2100 Hz (Penna y Veloso, 1990).

Debido a todas las características antes señaladas de *P. thaul*, resulta interesante estudiar su conducta vocal. En esta memoria se estudiará la capacidad de discriminar la ubicación espacial de una fuente de estimulación acústica, por parte de los machos.



**Figura N° 1.** Macho de *Pleurodema thaul* vocalizando con su saco vocal inflado, mientras flota perchado en la vegetación acuática

## **HIPÓTESIS**

Machos de *P. thaul* que vocalizan en espacios abiertos, tienen la capacidad de discriminar la ubicación espacial de una fuente sonora.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto de la ubicación espacial de los estímulos, en la respuesta vocal evocada de *P. thaul*.

## **OBJETIVO ESPECÍFICO**

Determinar las variaciones en las características temporales de las respuestas vocales evocadas por estímulos que difieren en su ubicación espacial.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Sitio de estudio

El estudio se realizó en Chile central, en la localidad de Los Maitenes (Lat. 34°40'39"S, Long. 71°26'00"W), zona de secano costero, (VI región), entre el 18 y 28 de Octubre de 2004. En este lugar existe una población de *P. thaul* que se distribuye en el curso de un pequeño estero de aguas poco profundas.

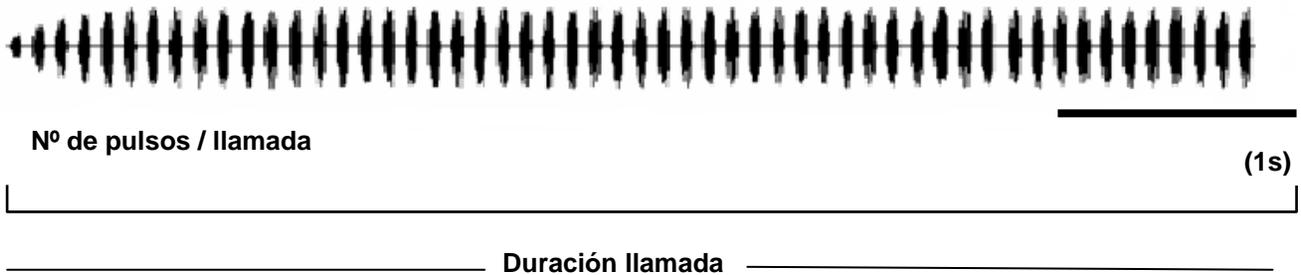
### 2.2 Diseño de estímulos

Se construyeron estímulos sintéticos, imitando la llamada de advertencia de *P. thaul*, a las temperaturas que se registran típicamente en el sitio de estudio, durante esta época (13-15-17 y 19°C). Estos estímulos se diseñaron de acuerdo a los valores promedio de las características temporales y espectrales de las llamadas de advertencia naturales de esta especie, establecidos previamente (Solís, 1994). Los valores así obtenidos, fueron ajustados con el programa SoundMaker 1.0.3, utilizando como frecuencia fundamental una sinusoidal de 2100Hz. Además, conforme a la relación inversa que existe entre la frecuencia dominante y la talla en esta especie (Solís, 1994), se construyó un estímulo con una frecuencia fundamental de 1900Hz, emulando a un individuo de mayor tamaño (Ver anexo ).

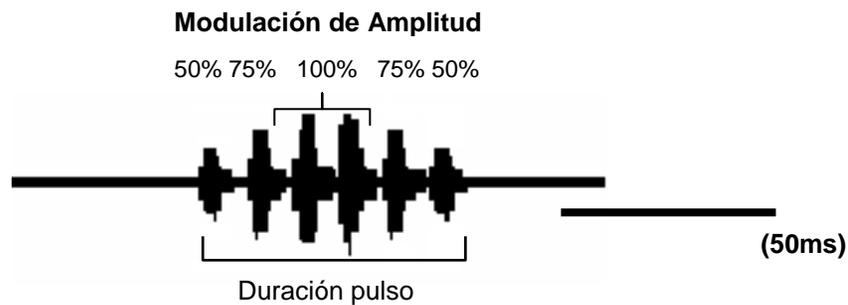
La composición básica de la llamada (Figura N° 2.a) se realizó con pulsos conformados con seis modulaciones de amplitud, las que tenían una amplitud relativa de 50%,75%,100%,100%, 75% y 50% (Figura N° 2.b).

## Diseño de Estímulos

### a) LLAMADA DE ADVERTENCIA SINTÉTICA



### b) PULSO



**Figura N° 2** Diseño de los estímulos. (a) Llamada o canto sintético compuesto por numerosos pulsos, (b) Pulso individual con modulaciones de amplitud.

Para cada temperatura se fabricó una serie de estímulos consistente en un total de 48 llamadas de advertencia de la especie (Figura N° 3). Las primeras 47 llamadas de la serie se construyeron con una frecuencia dominante de 2100Hz y la última con una de 1900Hz.

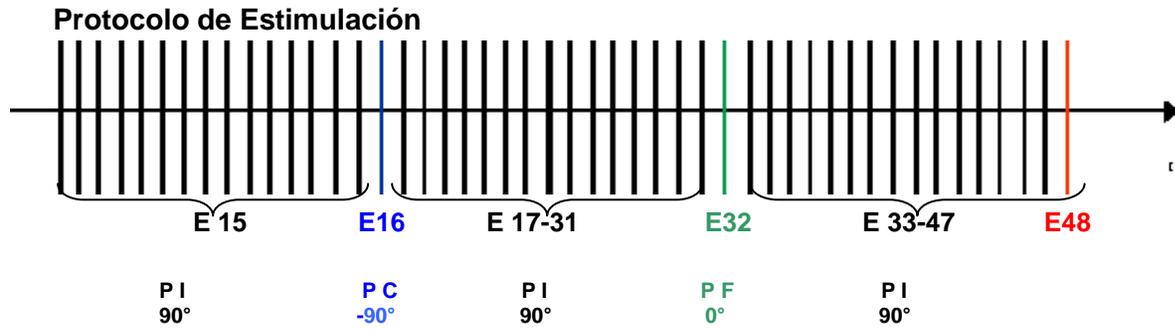
La serie se presentó con un intervalo entre llamadas equivalente a la duración de una y media llamada, para dar tiempo suficiente al sujeto para responder.

### 2.3 Experimentos de campo

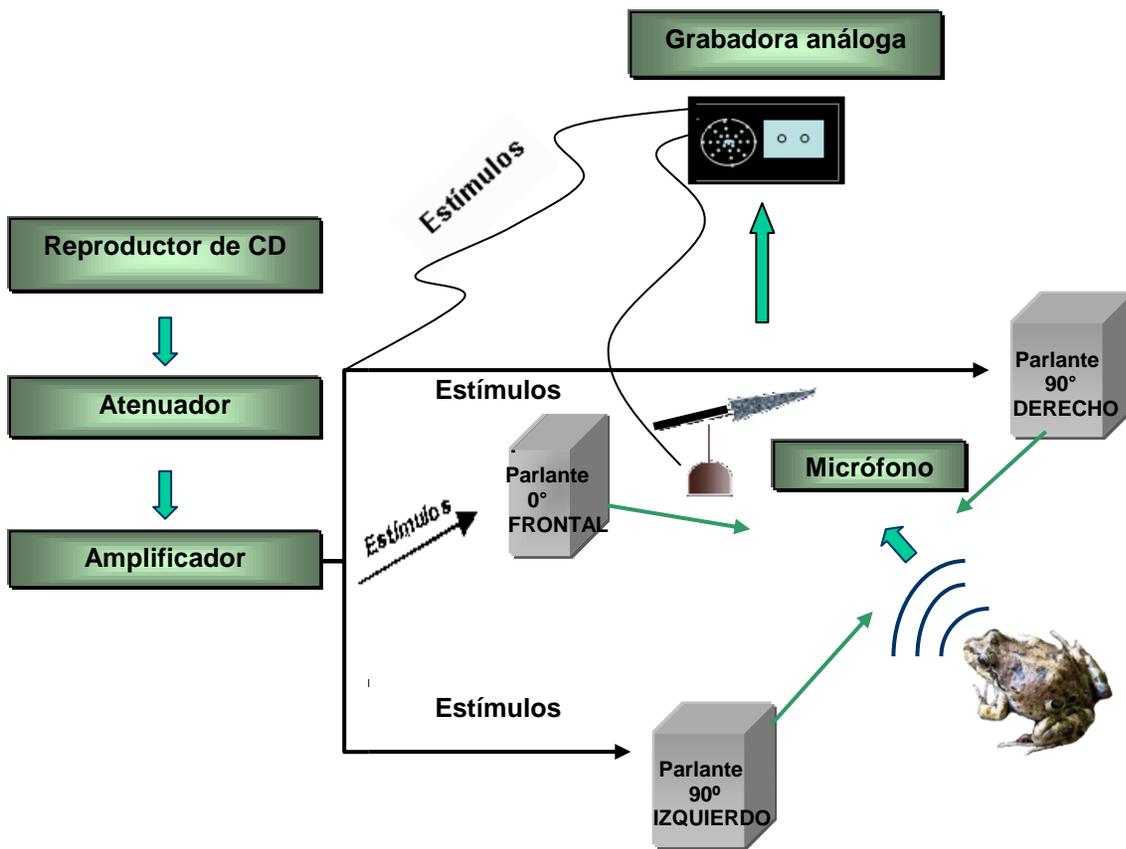
Los experimentos de estimulación se llevaron a cabo entre las 10:00 PM y 04:00 AM. En el sitio de estudio se localizaron machos que se encontraran vocalizando relativamente aislados. Equidistantes a un metro del sujeto se instalaron 3 parlantes (JBL T-50), con diferente orientación respecto a él: 0° frente, 90° izquierda y 90° derecha. Los parlantes fueron instalados sobre cámaras de goma sujetas a un armazón de aluminio, especialmente diseñado para mantener la relación angular entre los parlantes y el macho a estimular (Figura N° 4).

Los estímulos fueron presentados con un reproductor de CD (Sony Walkman) portátil, conectado a un amplificador (Alpine 3540) y atenuadores (Hewlett-Packard 355 C y D). Antes de comenzar el protocolo de estimulación, se midió la intensidad del sonido de los estímulos en la posición del sujeto de experimentación, utilizando un sonómetro (Bruel y Kjaer 2230). Posteriormente, estos fueron ecualizados ajustando los valores de atenuación, de modo que el sujeto percibiera con la misma intensidad el sonido proveniente de los parlantes ubicados en las diferentes posiciones. Se utilizó una intensidad de estimulación en la posición del sujeto de 80.5 dB. Esta intensidad corresponde a la promedio registrada en interacciones naturales entre vecinos de esta especie (Penna y Solis, 1998).

Además de los parlantes, se instaló un micrófono direccional (Sennheiser ME 66), frente al animal, a una distancia de 0.2-0.5 m, para grabar la respuesta vocal del individuo. Esta fue registrada en el canal izquierdo de una grabadora análoga (SONY TC-D5M) estéreo. Una de las salidas en línea del reproductor de CD fue conectada al canal derecho de esta grabadora, con el fin de obtener el registro simultáneo de los estímulos y las respuestas del animal.



**Figura N° 3** Protocolo de estimulación que consta de 3 series de 15 estímulos emitidos por un mismo parlante, 2 estímulos emitidos por parlantes diferentes y un estímulo de baja frecuencia por el parlante inicial. PI (parlante inicial), PC (parlante contrario) y PF (parlante frontal).



**Figura N° 4** Esquema de la disposición instrumental y el sistema de registro utilizado en los experimentos de estimulación. El reproductor de discos compactos se conecta a un atenuador y este a un amplificador y tres parlantes que reproducen los estímulos. Las respuestas vocales evocadas son grabadas en la grabadora (canal izquierdo), donde también se registran los cantos sintéticos del estímulo (canal derecho).

## 2.4 Protocolo experimental

En la figura N° 3 se presenta el protocolo de estimulación. Se emitió un total de 48 estímulos en la siguiente secuencia:

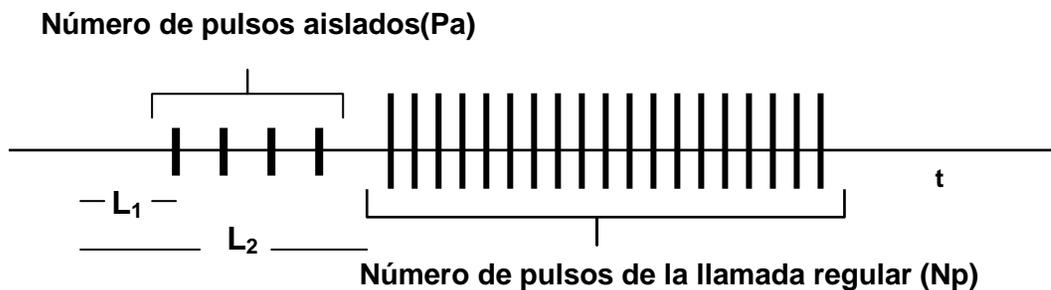
- a) 15 estímulos (N° 1-15), emitidos por uno de los parlantes ubicados a 90° izquierda o derecha, dependiendo de la orientación de su vecino más próximo al momento de ubicar al macho (P.I: Parlante Inicial).
- b) 1 estímulo (N° 16) presentado por el parlante ubicado en la posición opuesta ( 90° derecha o izquierda) a aquel por el cual se inició la estimulación (P.C: Parlante Contrario).
- c) 15 estímulos (N° 17-31) emitidos por el parlante inicial (P.I).
- d) 1 estímulo (N° 32) presentado por el parlante ubicado frente al animal (0°).
- e) 15 estímulos (N° 33-47) emitidos por el parlante inicial (P.I)
- f) 1 estímulo (N° 48) presentado por el parlante definido en (a). Este estímulo, a diferencia de los anteriores, fue el que tenía una frecuencia dominante de 1900 Hz.

Durante la presentación de los estímulos, la actividad vocal de los vecinos fue suprimida agitando suavemente el agua o la vegetación cerca de sus sitios de asentamiento. Al inicio del protocolo de estimulación se midió la temperatura del aire y del agua con un teletermómetro (Digi-Sense 8528-20), con el fin de seleccionar la serie de estímulos apropiada para la temperatura medida. Al finalizar la estimulación se repitieron estas medidas.

## 2.5 Análisis de las respuestas vocales evocadas.

Las cintas con los registros acústicos fueron adquiridos y digitalizados (frecuencia de muestreo de 44.1 kHz) mediante una interfaz análogo-digital (Motu 828), almacenados en un computador Macintosh (G4 Power PC), en formato AIFF y utilizando los softwares Peak L.E. 2.52 y Soundapp 2.7.3.

Las respuestas vocales evocadas fueron analizadas con el programa Signalyze 3.12. Se midieron las siguientes variables: número de pulsos aislados (P.a) que antecedían a la llamada regular, número de pulsos (N.p) de la llamada regular, latencia 1 ( $L_1$ ): tiempo transcurrido entre el inicio del estímulo y el inicio del primer pulso aislado y latencia 2 ( $L_2$ ): tiempo transcurrido entre el inicio del estímulo y el inicio del primer pulso de la llamada regular (Figura N° 5).



**Figura N° 5** Variables medidas en las respuestas vocales evocadas de los machos considerados en este estudio: latencia de respuesta ( $L_1$ ): tiempo transcurrido entre el inicio del estímulo y el inicio del primer pulso aislado y ( $L_2$ ): tiempo transcurrido entre el inicio del estímulo y el inicio del primer pulso de la llamada regular, número de pulsos aislados (Pa), número de pulsos de la llamada regular (Np).

Las comparaciones de las variables de las respuestas dadas durante la 1ª, 2ª y 3ª secuencias de 15 estímulos por el parlante inicial, se analizaron con ANDEVA de una vía y la comparación de las variables de las respuestas vocales evocadas por los machos, en los diferentes ángulos de estimulación se realizaron mediante análisis de varianza no paramétrico (Prueba de Friedman) y Prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas (Siegel, 1979). En este último caso, se compararon los valores de dos variables medidas en los estímulos 16, 32 y 45 con los de la respuesta al último de los estímulos que la antecedía.

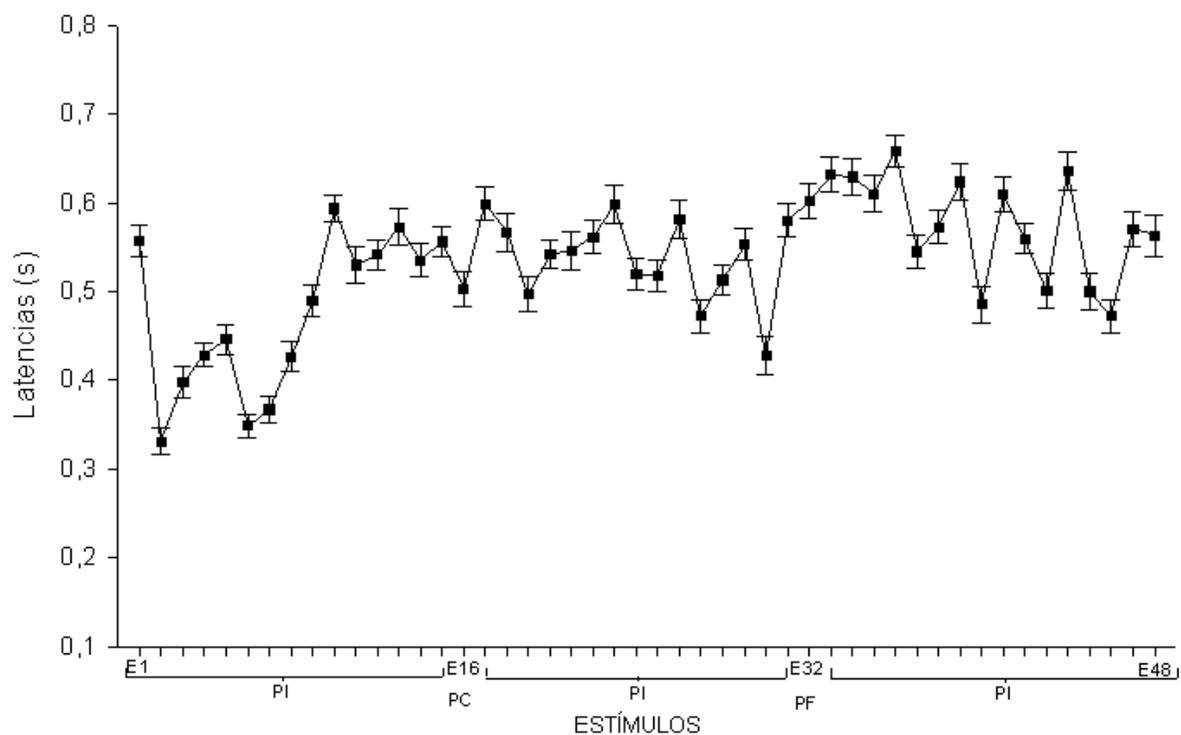
### 3. RESULTADOS

Un total de 15 machos fueron sometidos al protocolo experimental. La mayoría de los individuos respondió persistentemente durante la presentación de la serie de estímulos y sólo un macho dejó de responder a algunos estímulos de la serie experimental.

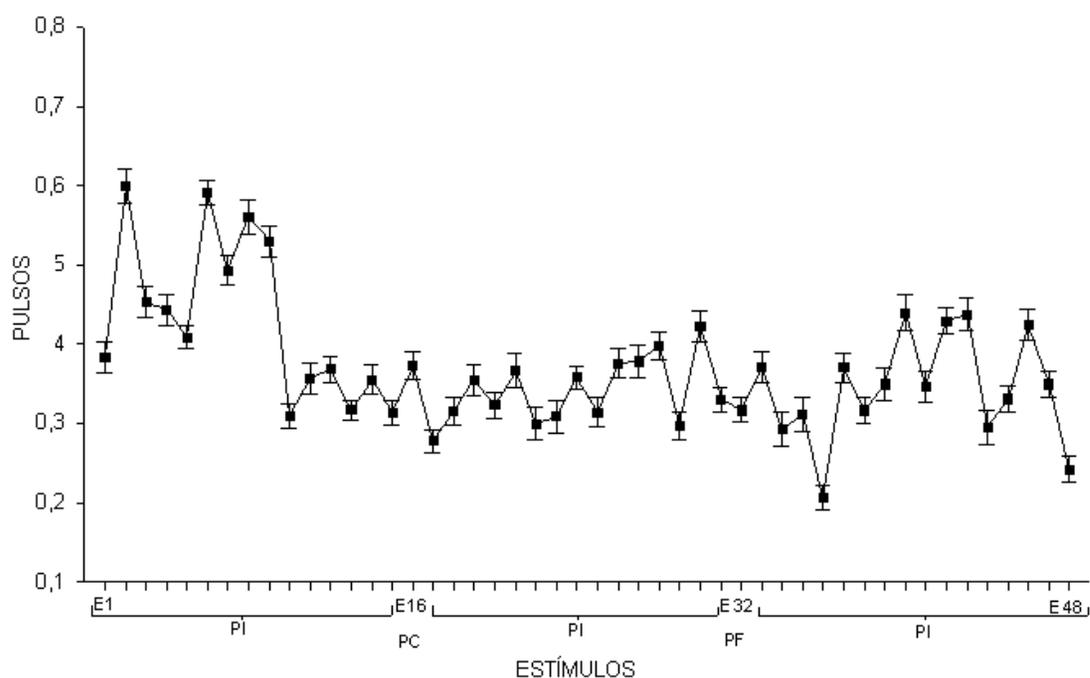
Para graficar las respuestas, las variables latencia y número de pulsos fueron normalizados con respecto a los correspondientes valores máximos observados en cada individuo. En la figura N° 6 y N° 7, se presentan los valores promedios de las respuestas (latencia y número de pulsos) normalizadas de los machos a los 48 estímulos que componían la serie.

Con el fin de determinar eventuales diferencias en las características temporales de las respuestas dadas a los estímulos provenientes de las diferentes orientaciones espaciales, se compararon las latencias y número de pulsos medidos en las respuestas evocadas por los estímulos presentados a 90° (derecha e izquierda), 0° y al estímulo de baja frecuencia (90° derecha o izquierda). El análisis de varianza no paramétrico (Prueba de Friedman) no revela diferencias significativas entre las latencias ( $\chi^2 = 0.680$ ,  $p > 0.05$ ), ni en el número de pulsos ( $\chi^2 = 4.049$ ,  $p > 0.05$ ) de las respuestas evocadas desde las diferentes posiciones.

Para determinar el efecto inmediato del cambio de orientación en la estimulación, se compararon los valores de latencia y número de pulsos de la respuesta evocada por un cambio de orientación y aquella dada al último estímulo de la secuencia de 15 estímulos que le precedía (ver figura N° 3), presentados por el parlante que inició la serie. La prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas estableció que el cambio de orientación de la fuente de estimulación no produjo cambios estadísticamente significativos en los valores de latencia ( $p > 0.05$ ) y número de pulsos ( $p > 0.05$ ) de las correspondientes respuestas.



**Figura N° 6** Promedios de latencias normalizadas de las respuestas dadas por los 15 individuos, a la presentación de los 48 estímulos que componían la serie experimental. Las presentaciones del estímulo número 16 y 32 corresponden a un cambio del parlante de estimulación. PI parlante inicial, PC parlante contrario, PF parlante frontal E1-E16-E32 estímulos 1-16-32 y 48, respectivamente.



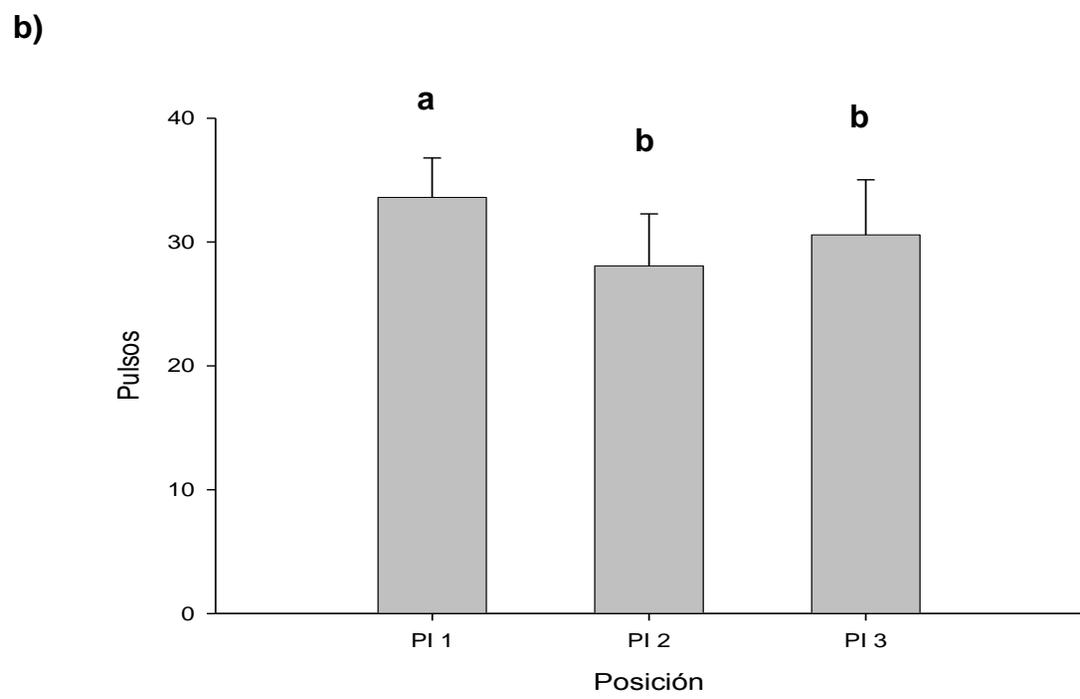
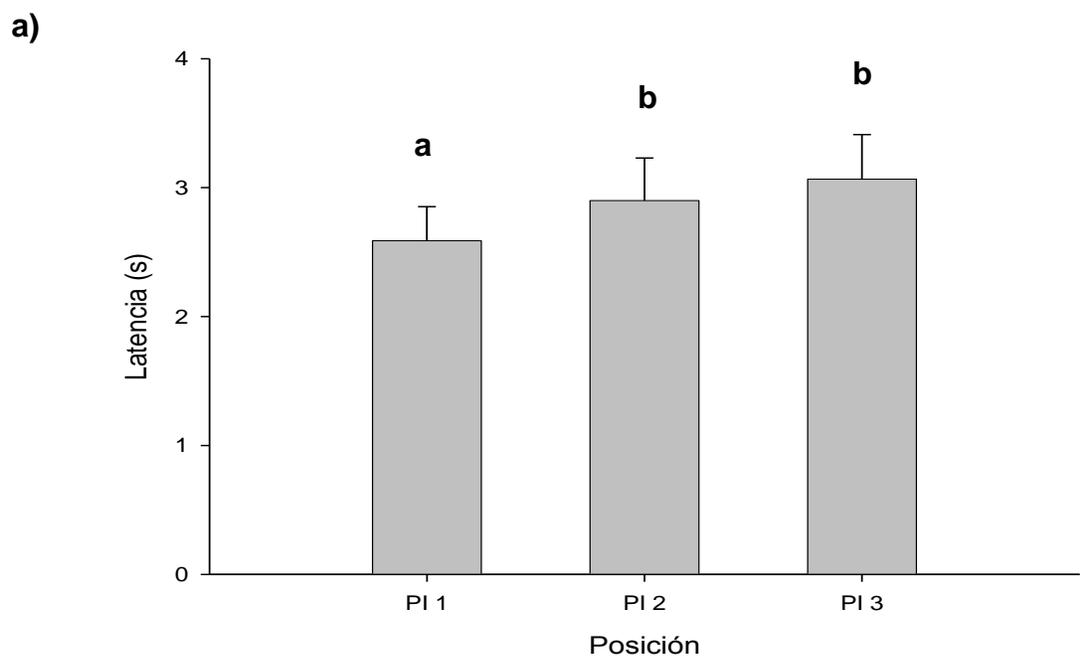
**Figura N° 7** Promedios del número de pulsos normalizados de las respuestas dadas por los 15 individuos, a la presentación de los 48 estímulos que componían la serie experimental. Las presentaciones del estímulo número 16 y 32 corresponden a un cambio del parlante de estimulación. PI parlante inicial, PC parlante contrario, PF parlante frontal E1-E16-E32 estímulos 1-16-32 y 48, respectivamente.

Se observa en la figura N° 6 y N° 7 que existe una variación en las respuestas expresadas en valores de latencia, las cuales al inicio de la primera serie experimental son menores, respecto de la segunda y tercera serie de estímulos por el parlante inicial. Por el contrario las respuestas expresadas en número de pulsos fueron mayores que las generadas en la segunda y tercera serie de estímulos por el parlante inicial.

Para determinar la significación de esta variación, se realizó un análisis de varianza de 2 vías, que consideró las tres secuencias de 15 estímulos (ver figura N° 3) y los valores de latencia y número de pulsos de las respuestas dadas a cada una de estas secuencias. La latencia de respuesta (L2) a la primera secuencia, fue significativamente menor que para la segunda y tercera secuencias ( $F_{2,42} = 7,010$ ;  $p < 0,05$ ). En forma similar, como lo muestra la figura N° 8.b, se determinó que las respuestas dadas a la primera secuencia contenían un número significativamente

mayor de pulsos que los determinados en las respuestas a la segunda y tercera secuencia ( $F_{2,42} = 3,197$ ;  $p < 0,05$ ).

Dado que, algunos machos emitían pulsos aislados (Pa) (ver figura N° 5) antes de iniciar la llamada regular, se analizó el número de estos pulsos dados en respuesta al cambio de ubicación del estímulo y al cambio en el contenido espectral (E48). Los resultados indican que no existieron diferencias significativas en los (Pa) dados en respuesta al cambio de orientación (E1-E16-E32, ver figura N° 3) o contenido espectral de emisión del estímulo E48 ( $\chi^2 = 1,051$ ;  $p > 0,05$ ) respecto al último de la secuencia de 15 estímulos que le precedía, dados por el parlante inicial.



**Figura N° 8** (a) Latencias y (b) número de pulsos de las respuestas vocales evocadas dadas a la serie de estímulos, a las tres secuencias de 15 estímulos emitidas por el parlante inicial (PI). Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ). Barras indican promedios, líneas verticales desviación standard.

la prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas reveló que en ninguna de las tres comparaciones existen diferencias significativas ( $p > 0,05$ ).

En forma similar, cuando se compararon el número de pulsos aislados (Pa) de las respuestas evocadas a los estímulos E1, E16 y E32, es decir, aquellos estímulos asociados a un cambio de orientación, no se observaron diferencias significativas (ANOVA,  $F_{2,42} = 1,025$   $p < 0,05$ ).

#### 4. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio muestran que los machos de *P. thaul*, no discriminan la localización espacial de una fuente de estimulación acústica, ya que la respuesta vocal evocada (RVE) de los sujetos experimentales no presentó variaciones al ser estimulados desde diferentes posiciones con un mismo tipo e intensidad de estímulo.

En concordancia con los resultados de este estudio, en experimentos similares realizados en *Eusophus calcaratus*, un anuro del sur de Chile, también se determinó la ausencia de un efecto de la ubicación espacial de la fuente de estimulación en las respuestas vocales de los machos (Penna y Quispe, 2007). Sin embargo, la invarianza en las respuestas vocales de esta especie fosorial pueden resultar del ambiente de ondas estacionarias al interior de las cuevas desde donde cantan los machos, que dificulta la localización de la fuente sonora.

La falta de dependencia de la respuesta vocal a los estímulos emitidos desde las tres diferentes posiciones en que se encontraban los parlantes en este estudio y en el de Penna y Quispe, (2007), contrasta con la respuesta vocal de la *Rana catesbeiana*. En esta especie se ha demostrado que los machos pueden alterar las llamadas, produciendo una proporción mayor de llamadas agresivas cuando el estímulo se presenta desde una nueva posición (Davis, 1987; Bee y Gerhardt, 2001). En esta rana, el cambio en el comportamiento vocal podría señalar la disposición de iniciar una confrontación y regular así las interacciones sociales. Además, este anuro reconoce características específicas de las señales acústicas de vecinos, a las que han estado expuesto en forma repetitiva (Bee y Gerhardt, 2001).

La menor latencia de respuesta y el mayor número de pulsos que se observó al comienzo de la secuencia inicial de estimulación, podría relacionarse con un proceso de habituación o acomodación de la respuesta a repetidas llamadas emitidas con una

intensidad constante, similar al que se ha observado en otros anuros (Rose y Brenowitz, 1997; Brenowitz y Rose, 1999).

La invarianza en la respuesta de los machos de *P. thaul* a los estímulos acústicos presentados, podría deberse a el limitado tiempo de exposición a un estímulo desde una nueva posición, que resultaría insuficiente para inducir alguna modificación en la conducta vocal, manteniendo así, una respuesta “habituada” o “acomodada” a los primeros quince estímulos emitidos. Un razonamiento similar podría explicar la mantención de la respuesta al estímulo de baja frecuencia, presentado al final de la serie experimental. Sin embargo, en un trabajo posterior, realizado en esta misma especie, el cual se modificó el protocolo experimental, aumentando el número de estímulos en cada posición, confirmó que esta especie mantiene la independencia vocal frente a las llamadas en todos los ángulos de emisión y variación espectral del estímulo (Solís *et al.*, datos no publicados).

La mantención de la respuesta de los machos de *P. thaul* al estímulo de baja frecuencia, también revela una independencia de la actividad vocal de la composición espectral del estímulo, en forma concordante a lo observado en la rana *Epipedobates femoralis* (Hold *et al.*, 2004). Sin embargo, la invarianza de las respuestas de estos anuros a variaciones del contenido espectral del estímulo, contrasta con estudios realizados en otras especies, en las cuales las respuestas vocales evocadas se modifican en correspondencia con el contenido espectral del estímulo (Wagner, 1989; Bee y Perril, 1996; Bosch *et al.*, 2000, 2002a; Bee *et al.*, 1999, 2000). Esta discrepancia podría deberse a diferentes grados de selectividad a los componentes espectrales y complejidad de sus llamadas especie-específicas (Penna y Hamilton-West, 2007). En este sentido, los machos de *P. thaul* emiten una llamada espectralmente simple (Penna *et al.*, 2008) y en ambientes con moderada interferencia acústica (Penna y Hamilton-West, 2007), lo cual contribuiría a un procesamiento menos restrictivo del componente espectral de sus llamadas.

La independencia de las respuestas vocales de *P. thaul* de la ubicación del estímulo, contrasta con las modificaciones que éstas experimentan con variaciones de la intensidad del estímulo. En un estudio reciente (Penna *et al.*, 2008), se observó que los machos de *P. thaul* incrementan el número de pulsos con que responden a medida que se incrementa la intensidad del estímulo. Esta dependencia también se ha observado en otras especies, en las que los machos responden con cantos agresivos a estimulaciones con mayor intensidad (Brenowitz, 1989; Schwartz, 1989; Wagner, 1989; Wells, 1989; Rose y Brenowitz, 1991). Estos resultados, conjuntamente con la invarianza de las respuestas de los machos ante estímulos de igual intensidad, observada en este estudio, sugieren un rol determinante de la intensidad con que son percibidos los estímulos en la respuesta vocal de *P. thaul*. En varias especies, se ha establecido que esta variable determina el espaciamiento de los machos y modula sus interacciones acústicas (Brenowitz *et al.*, 1984; Gerhardt *et al.*, 1989; Robertson, 1984)

En dos especies de anuros se ha determinado que existe el efecto del “enemigo querido” (Bee, 2003; Bee y Gerhardt, 2001), en el cual los machos logran discriminar entre las llamadas de un vecino familiar y uno extraño (*Rana catesbeiana*, Davis *et al.*, 1987; *Colosthetus beebei*, Bourne *et al.*, 2002). Sin embargo, este efecto no ocurre en otras especies como *Dendrobates pumilio* (Bee, 2003; Gardner y Graves, 2005), la cual no expresa diferencias en las respuestas vocales entre llamadas de vecinos familiares y desconocidos. Los resultados de este estudio en *P. thaul* indican que la respuesta diferencial a un estímulo desde una nueva localización tampoco presenta un patrón general de reacción en anuros. Esta restricción en las respuestas en relación a otros vertebrados, probablemente está relacionada con un limitado desarrollo de conductas sociales en anuros.

Finalmente, numerosos trabajos indican que la persistencia de la actividad vocal, manifestada a través del esfuerzo de canto y asistencia de los machos a los coros, esta directamente relacionada con el éxito reproductivo (López y Narins, 1991). Desde este punto de vista, los resultados aquí informados sugieren que para los machos de *P. thaul* lo importante es mantenerse respondiendo a las llamadas de otros machos, no

importando el desde donde éstos las emitan, mientras mantengan una intensidad moderada y constante.

## 5. CONCLUSIONES

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

- Los machos de *Pleurodema thaul*, no discriminan la localización espacial de una fuente de estimulación acústica.
- No existe un patrón general de reacción en las distintas especies de anuros, frente a variaciones en la ubicación espacial de una fuente de estimulación acústica de igual intensidad.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- **BEE, M. A.** 2003. A test of the “dear enemy effect” in the strawberry Dart-poison frog (*Dendrobates pumilio*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 54: 601-610.
- **BEE, M. A.; GERHARDT, C.** 2001. Neighbor-stranger discrimination by territorial male bullfrogs *Rana catesbeiana*: II. Perceptual basis. *Anim. Behav.* 62: 1141-150.
- **BEE, M. A.; PERRIL, S. A.** 1996. Responses to conspecific advertisement calls in the green frog (*Rana clamitans*) and their role in male-male communication. *Behaviour* 133: 283-301.
- **BEE, M. A.; PERRIL, S. A.; OWEN, P. C.** 1999. Size assessment in simulated territorial encounters between male green frogs (*Rana clamitans*). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 45: 177-184.
- **BEE, M. A.; PERRIL, S. A.; OWEN, P. C.** 2000. Male green frogs lower the pitch of acoustic signals in defense of territories: A possible dishonest signal of size? *Behav. Ecol.* 11:169-177.
- **BOSCH, J.; RAND, A. S.; RYAN, M. J.** 2000. Acoustic competition in *Physalaemus pustulosus*, a differential response to calls of relative frequency. *Ethology* 106: 865-871.
- **BOSCH, J.; RAND, A. S.; RYAN, M. J.** 2002a. Response to variation in chuck frequency by male and female Túngara Frogs. *Herpetologica* 58:95-103.
- **BOSCH, J.; MARQUEZ, R.; BOYERO, L.** 2002b. Behavioural patterns, preference, and motivation of female midwife toads during phonotaxis tests. *J. Ethol.* 21: 61-66.
- **BOURNE, G. G.; COLLINS, A. C.; HOLDER, A. M.; McCARTHY, C. L.** 2002. Vocal communication and reproductive behaviour of the frog *Colosthetus beebei* in Guyana. *J. of Herpetol.* 35: 272-281.
- **BRADBURY, J.; VEHCAMP, S.** 1998. Principles of animal communication. Ed. Sinauer Associates, Inc. Department of Biology, University of California, San Diego, USA, Chapter 26, pp. 877-880.
- **BRENOBITZ, E. A.** 1989. Neighbor call amplitude influences aggressive behavior and intermale spacing in choruses of the Pacific Treefrog (*Hyla regilla*). *Ethology* 83: 69-79.

- **BRENOWITZ, E. A.; ROSE, G. J.** 1999. Female choice and plasticity of male calling behaviour in the Pacific treefrog (*Hyla regilla*). *Anim. Behav.* 57: 1337-1342.
- **BRENOWITZ, E. A.; WILCZYNSKI, W.; ZAKON, H. H.** 1984. Acoustic communication in spring peepers. Environmental and behavioral aspects. *J. Comp. Physiol. A.* 155: 585-592.
- **CAPRANICA, R. R.** 1978. Auditory processing in anurans. *Fed. Proc.* 3: 2324-2328.
- **CEI, J. M.** 1962. *Batracios de Chile.* Universidad de Chile. Santiago, Chile. pp. 128.
- **DAVIS, M. S.** 1987. Acoustically mediated neighbor recognition in the North American bullfrog, *Rana catesbeiana*. *Behav. Ecol. and Sociobiol.* 21: 185-190.
- **DÍAZ-PÁEZ, H.; ORTIZ, J. C.** 2001. The reproductive cycle of *Pleurodema thaul* (Anura: Leptodactylidae) in central Chile. *Amphib. Reptil.* 22: 431-445.
- **EGGERMONT, J. J.** 1988. Mechanisms of sound localization in anurans. **In:** The evolution of the anurans auditory system. Fritzsche, B.; Ryan, M.J. Wilczynski, W.; Hetherington, T.E. y Walkowiak, W. (eds). Wiley, New York, USA. pp. 307-309.
- **FENG, S.; GERHARDT, C.; CAPRANICA, R.** 1976. Sound localization behavior of the Green Treefrog (*Hyla cinerea*) and Barking Treefrog (*Hyla gratiosa*). *J. Comp. Physiol.* 107: 241-252.
- **FENG, S.; SCHELLART, M.** 1999. Central auditory processing in fish and amphibians. **In:** Comparative Hearing: Central Auditory Processing in Fish and Amphibians. R. R. Fay & A. N. Popper (eds.) Springer-Verlag, New York, USA. pp.218-268.
- **GARDNER, E. A.; GRAVES, B. M.** 2005. Responses of resident male *Dendrobates pumilio* to territory intruders. *J. of Herpetol.* 39: 248-253.
- **GERHARDT, H. C.** 1988. Acoustic properties used in call recognition by frogs and toads. **In:** The evolution of the anurans auditory system. Fritzsche, B.; Ryan, M.J. Wilczynski, W.; Hetherington, T.E. y Walkowiak, W. (eds). Wiley, New York, USA. pp. 455-483.
- **GERHARDT, H. C.; DIEKAMP, B.; PTACECK, M.** 1989. Intermale spacing in choruses of the spring peeper, *Pseudacris crucifer*. *Anim. Behav.* 38: 1012-1024.
- **GERHARDT, H. C.; HUBER, F.** 2002. Acoustic communication in insects and anurans. The University of Chicago press, Chicago, USA. pp. 82-234.

- **GOOLER, M.; XU, H.; FENG, S.** 1996. Binaural inhibition is important in shaping the free-field frequency selectivity of single neurons in the frog inferior colliculus. *J. Neurophysiol.* 76: 2580-2594.
- **HARRISON, P.; LITTLEJOHN, J.** 1985. Diphasy in the advertisement calls of *Geocrinia laevis* (Anura: Leptodactylidae): vocal responses of males during playback. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 19: 67-73.
- **HOLD, W.; AMEZQUITA, A.; NARINS, P. M.** 2004. The role of call frequency and the auditory papillae in phonotactic behavior in male Dart-poison frogs *Epipedobates femoralis* (Dendrobatidae) *J. Comp. Physiol* 190: 823-829.
- **KLUMP, M.; GERHARDT, C.** 1989. Sound localization in the barking treefrog. *Naturwissenschaften* 76: 35-37.
- **KNUDSEN, I.; ZHENG, W.; DE BELLO, W.** 2000. Traces of learning in auditory localization pathway. *Colloquium* 97: 11815-11820.
- **LOPEZ, P.; NARINS, P.** 1991. Mate choice in the neotropical frog, *Eleutherodactylus coqui*. *Anim. Behav.* 41: 757-772.
- **NARINS, P. M.; HOLD, W.; GRABUL, D.S.** 2003. Bimodal signal requisiste for agonistic behavior in a Dart-poison frog, *Epipedobates femoralis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 577-580.
- **PENNA, M.; VELOSO, A.** 1990. Vocal diversity in frogs of the South American temperate forest. *J. of Herpetol.* 24: 23-33.
- **PENNA, M.; SOLIS, R.** 1998. From call intensities and sound propagation in the South American temperate forest region. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 42: 371-381.
- **PENNA, M.; HAMILTON-WEST, C.** 2007. Suceptibility of evoked vocal responses to noise exposure in a frog of the temperate austral forest. *Anim. Behav.* 74: 45-56.
- **PENNA, M.; QUISPE, M.** 2007. Independence of evoked vocal responses from stimulus direction in Burrowing Frogs *Eupsophus* (Leptodactylidae). *Ethology* 113: 313-323.
- **PENNA, M.; VELASQUEZ, N.; SOLIS, R.** 2008. Correspondence between evoked vocal responses and auditory thresholds in *Pleurodema thaul* (Amphibia; Leptodactylidae). *J. Comp. Physiol. A.* 194: 361-371.
- **RAND, S.** 1988. An overview of anuran acoustic communication. **In:** The evolution of the anurans auditory system. Fritzsich, B.; Ryan, M.J. Wilczynski, W.; Hetherington, T.E. y Walkowiak, W. (eds). Wiley, New York, USA. pp. 415-431.

- **ROBERTSON, J. G. M.** 1984. Acoustic spacing by breeding males of *Uperoleia rugosa* (Anura: Leptodactylidae). *Z. Tierpsychol.* 64: 283-297.
- **ROSE, G. J.; BRENOWITZ, E. A.** 1991. Aggressive thresholds of male Pacific treefrogs for advertisement calls vary with amplitude of neighbor's calls. *Ethology* 89: 244-252.
- **ROSE, G. J.; BRENOWITZ, E. A.** 1997. Plasticity of aggressive thresholds in *Hyla regilla*: discrete accommodation to encounter calls. *Anim. Behav.* 53: 353-361.
- **SCHWARTZ, J.** 1989. Graded aggressive calls of the spring peeper *Pseudacris crucifer*. *Herpetologica* 45: 172-181.
- **SIEGEL, S.** 1979. *Estadística No Paramétrica*. Editorial Trillas, Mexico.
- **SOLÍS, R.** 1994. Factores moduladores de las interacciones sociales acústicas de *Pleurodema thaul*. Tesis Doctor en Ciencias. Santiago, Chile. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias. 76 p.
- **WAGNER, W. E. Jr.** 1989. Fighting, assessment, and frequency alteration in Blanchard's cricket frog. *Behav. Ecol. and Sociobiol.* 25: 429-436.
- **WANG, J.; LUDWIG, A.; NARINS, P.** 1996. Spatial and spectral dependence of the auditory periphery in the northern leopard frog. *J. Comp. Physiol.* 178: 159-172.
- **WELLS, K. D.** 1989. Vocal communication in a neotropical treefrog, *Hyla ebraccata*: aggressive calls. *Copeia* 1989, 461-466.
- **XU, H.; GOOLER, M.; FENG, S.** 1996. Effects of sound direction on the processing of amplitude-modulated signals in the frog inferior colliculus. *J. Comp. Physiol.* 178: 435-445

## ANEXO

Valores de las características temporales de las llamadas utilizadas para construir los estímulos acústicos a diferentes temperaturas, de acuerdo a valores previamente establecidas (Solís, 1994).

### Frecuencia Fundamental de 2100 Hz

T°del agua (°C)	Duración Pulso (ms)	N° de Pulsos por llamada	Duración de la llamada	Intervalo entre llamadas (ms)	Frecuencia de pulsos (pulsos/s)
13	56	40	4480	6720	8.93
15	51	47	4834	7251	9.80
17	48	54	5184	7776	10.42
19	44	61	5368	8052	11.36

### Frecuencia Fundamental de 1900 Hz

T°del agua (°C)	Duración Pulso (ms)	N° de Pulsos por llamada	Duración de la llamada	Intervalo entre llamadas (ms)	Frecuencia de pulsos (pulsos/s)
13	56	40	4515	6385	8.93
15	51	47	4822	7263	9.80
17	48	54	5184	7776	10.42
19	44	61	5368	8052	11.36