



**UNIVERSIDAD DE CHILE**



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS  
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS

UMBRAL DE INTENSIDAD ACÚSTICA QUE EVOCA  
RESPUESTA EN HEMBRAS DEL ANURO  
*Pleurodema thaul*

**ELIZABETH MARCELA FRANCINO HURTADO**

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

**PROFESOR GUÍA: RIGOBERTO SOLÍS MUÑOZ**

SANTIAGO, CHILE  
2011

**Dedicada con mucho cariño a mis padres.**

## **AGRADECIMIENTOS**

Al finalizar esta memoria de título, quiero agradecer a todas las personas, que de alguna manera u otra son parte de este logro.

En primer lugar debo agradecer al Sr. Rigoberto Solís, profesor guía de esta tesis, por toda la paciencia demostrada, por guiarme en estos últimos años, por su disposición y ayuda brindada en todo momento. También quiero agradecer al Sr. Mario Penna por facilitarme datos e información relacionada con el tema abordado en el presente trabajo.

Agradezco de todo corazón a mis padres y hermanas, por todo su amor, cariño y comprensión. A mis padres, Oscar y Elizabeth, quienes han estado siempre junto a mí, entregándome palabras de aliento y apoyo en los momentos más difíciles, porque sin ellos nada de esto hubiese sido posible. A mis hermanas, Lisette, Yubitza y Silvia, porque se que cuento con ellas siempre. Además quiero expresar mi agradecimiento a mi amor, Canek, que ha estado en todo momento dándome ánimos para continuar y fue clave en aquellos momentos de dificultad, siendo un pilar fundamental para terminar con éxito esta etapa de mi vida.

También quiero agradecer especialmente a todos mis amigos, los que fui haciendo a lo largo de todos estos años de carrera y quienes han estado junto a mí, brindándome su compañía, alegría, confianza y lealtad.

Finalmente agradezco a Dios por llenar mi vida de dicha y bendiciones.

Sinceramente, MUCHAS GRACIAS.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	1
SUMMARY.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
Comunicación acústica en anuros.....	5
Efecto de las hormonas en la audición.....	7
Características del sujeto experimental.....	9
OBJETIVO GENERAL.....	13
OBJETIVO ESPECÍFICO.....	13
MATERIALES Y MÉTODOS.....	14
Sitio de estudio.....	14
Síntesis de estímulos.....	15
Sistema experimental.....	15
Análisis de las respuestas.....	17
Análisis estadístico.....	18
RESULTADOS.....	19
DISCUSIÓN.....	22
CONCLUSIONES.....	25
BIBLIOGRAFÍA.....	26
ANEXO 1: Valores umbrales de intensidad y otras variables medidas en las hembras.....	29

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Hembra (izquierda) y macho (derecha) de la especie <i>Pleurodema thaul</i> que se encuentran entre la vegetación emergente a la orilla de un pequeño arroyuelo de aguas poco profundas y de flujo lento.....	10
<b>Figura 2.</b> Llamada de advertencia de <i>Pleurodema thaul</i> . (A) Ejemplo de respuesta de un macho ante la presentación de un estímulo homoespecífico. Durante el traslapo del estímulo con la respuesta de macho, éste emite pulsos con duración y número de modulaciones de amplitud variable (B). En la porción de la respuesta no traslapada con el estímulo, el macho emite pulsos de duración y número de modulaciones de amplitud homogéneo (C).....	11
<b>Figura 3.</b> Proceso de búsqueda y recolección de hembras.....	14
<b>Figura 4.</b> Esquema de la disposición de los instrumentos utilizados en los experimentos de estimulación. El reproductor del canto se conecta a un adaptador de impedancia, este a un atenuador, el cual se conecta a un amplificador y luego a un parlante, por el cual se reproduce el estímulo hacia la rana.....	16
<b>Figura 5.</b> Ausencia de correlación entre el peso de las hembras y el umbral de respuesta evocada.....	20
<b>Figura 6.</b> Ausencia de correlación entre el área (cm) de las hembras y el umbral de respuesta evocada.....	21
<b>Figura 7.</b> Umbrales de respuesta auditiva entre machos y hembra.....	21

## RESUMEN

En los anfibios anuros, las señales acústicas son ampliamente utilizadas como medio de comunicación. En la época de apareamiento, los machos emiten vocalizaciones para atraer a las hembras y delimitar territorios. Estos cantos se denominan llamada de advertencia y llamada agresiva, respectivamente. Sin embargo, los machos del anuro chileno *Pleurodema thaul* no producen una llamada agresiva específica, por lo que en interacciones agresivas modifican la estructura temporal de su llamada de advertencia. Por su parte, la hembra de esta especie no emite vocalizaciones a distancia y en respuesta a la llamada de advertencia, ellas muestran respuestas fonotácticas, es decir, movimientos en dirección hacia el macho que emite la llamada. Entre los factores que pueden afectar este proceso comunicacional entre machos y hembras, están las hormonas esteroidales que pueden modificar la producción vocal y el procesamiento sensorial de estas señales, en los individuos emisor y receptor.

El presente estudio tuvo como objetivo determinar el umbral de intensidad acústica que evoca una respuesta fonotáctica en hembras de *P. thaul*. Para esto, se diseñó un protocolo experimental que consistió en la presentación de una imitación sintética de la llamada de advertencia a intensidades progresivamente crecientes, hasta observar algún signo de respuesta fonotáctica en la hembra. Los resultados indican que el umbral de respuesta de las hembras estaría alrededor de los 40,3 dB.

## SUMMARY

Acoustic signals are widely used by anuran amphibians as a mean of communication. During mating season, males emit vocalizations to attract females and to delimit territories. These calls are known as advertisement and aggressive call respectively. However, males of the Chilean anuran *Pleurodema thaul* do not produce a specific aggressive call and when aggressive interactions occur, they modify the temporal structure of their advertisement call. Meanwhile, the females of this species response to the male's advertisement call showing a phonotactic responses, toward the direction of the male emitting the call. Among the factors that could affect this communication process between males and females are steroid hormones which can modify the vocal production of the sender and sensory processing of these signals by the receiver.

The present study aimed to determine the threshold of sound intensity that evokes a phonotactic response in females of *P. thaul*. To this purpose an experimental protocol was designed which consisted of the presentation of a synthetic imitation of the advertisement call at progressively increasing intensities until observing any signs of phonotactic response in the female. The results indicate that the response threshold of the females to the advertisement of the males would be around 40,3 dB.

## INTRODUCCIÓN

Comunicación es el proceso mediante el cual un emisor y un receptor establecen una interacción en un momento y espacio determinados, para transmitir y/o intercambiar información a través de señales, que son comprensibles para ambos. Es así como en muchos sistemas de comunicación animal, los machos producen una señal de cortejo dirigida a las hembras, cuya respuesta puede ser variable: de acercamiento, aceptación, rechazo, etc.

Los anfibios anuros utilizan principalmente la comunicación acústica en sus interacciones sociales y reproductivas. En particular, los machos anuros compiten directamente con otros para acceder a las hembras, emitiendo señales sonoras específicas de agresión y atracción, respectivamente. En la especie *Pleurodema thaul*, los machos emiten un prolongado canto de advertencia y a diferencia de otras especies, no producen un canto agresivo específico, distinto al de advertencia. Sin embargo, cuando las distancias entre vecinos son cortas y se verifican interacciones agresivas, modifican la estructura temporal de su llamada de advertencia.

Durante la reproducción, la conducta vocal de los machos es afectada por los niveles hormonales circulantes, que actúan afectando, tanto la producción como la percepción de las señales acústicas. Entre las hormonas que tienen injerencia en estos procesos, se encuentran las hormonas esteroidales y, específicamente, la testosterona.

Por otra parte, las hembras de los anuros no vocalizan y las respuestas a las señales acústicas producidas por los machos, pueden variar durante el ciclo reproductivo. Estas variaciones individuales en el comportamiento podrían estar asociadas también a cambios en los niveles de estrógenos, que producirían diferencias en el procesamiento y sensibilidad sensorial a las señales comunicacionales.



Sin embargo, son escasos los trabajos realizados en este sentido, particularmente en hembras, y solo recientemente se ha desarrollado investigación al respecto. Esta Memoria de Título constituye un intento preliminar para determinar el umbral de intensidad acústica de las llamadas de advertencia, que evocan respuestas en hembras de *P. thaul*, mediante experimentos de fonotaxis.

## 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 Comunicación acústica en anuros

Los anfibios fueron posiblemente los primeros vertebrados que se comunicaron por sonido en la tierra y en la actualidad, en algunas temporadas y lugares, las vocalizaciones de ranas y sapos dominan el espacio acústico natural de la noche.

Una de las funciones básicas de la vocalización en anuros es atraer a los individuos para el apareamiento. Las vocalizaciones más frecuentemente emitidas por los machos durante la época reproductiva son aquellas que expresan información sobre su identificación especie-específica, estado reproductivo, ubicación y sobre los límites de su territorio (Rand, 1988), siendo estas 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). Con frecuencia, el llamado de advertencia de los machos tiene la doble función de delimitar un territorio y atraer a las hembras (Stebbins y Cohen, 1997). En respuesta a esta señal, los machos típicamente producen respuestas vocales y comportamientos territoriales, en tanto que las hembras muestran respuestas fonotácticas (Goense y Feng, 2005), es decir, movimientos en dirección hacia el macho que emite la llamada.

Las hembras de especies con períodos reproductivos prolongados asisten en forma asincrónica a las agregaciones reproductivas o coros que conforman los machos, y seleccionan uno de ellos, en base a las características acústicas de la llamada de advertencia que ellos emiten. En los coros, los machos se disponen a distancias interindividuales superiores a 2 m y la intensidad promedio de las llamadas de los vecinos en la posición de un macho componente del coro es de 81 dB SPL (Penna y Solís, 1998). 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 correspondencia con la producción vocal, una función principal de la audición en los anuros es la detección de señales acústicas especie-específicas importantes para el reconocimiento intraespecíficos, mantención de territorios, y en la localización de machos rivales o potenciales parejas. Los anuros no solo reconocen la llamada de advertencia característica de su especie, sino que también reconocen sonidos distintivos dirigidos hacia el mismo sexo o al sexo opuesto. En algunas especies, cuya vocalización varía geográficamente, los miembros de una población pueden distinguir entre sus propias señales y aquellas correspondientes a otros dialectos (Stebbins y Cohen, 1997).

Desde el punto de vista fisiológico, la recepción del sonido en los anfibios ocurre principalmente a través de dos áreas sensoriales del oído interno: la papila basilar (PB) y la papila anfibia (PA). Las frecuencias altas, por encima de 1KHz, son percibidas por la PB, mientras que las frecuencias medias y bajas, por debajo de 1KHz, son percibidas por la PA (Gerhardt y Schwartz, 2001). Sin embargo, los umbrales de intensidad que evocan respuestas vocales están sujetos a cambios, dependiendo de las circunstancias sociales en que se encuentren los individuos. Esto ha sido demostrado para el umbral de intensidad que evoca cantos agresivos en machos de la especie *Hyla regilla*. En estos machos, este umbral se incrementa después de la exposición prolongada a estos cantos emitidos a mayor intensidad, mediante un proceso denominado “acomodación” (Rose y Brenowitz, 1997). En las agregaciones reproductivas o coros, los machos de *P. thaul* están generalmente espaciados a distancias sobre los 2 m y perciben las vocalizaciones de sus vecinos con una intensidad máxima (“peak”) promedio cercana a 81 dB SPL<sup>1</sup>. Sin embargo, también se verifican interacciones vocales a distancias menores, que son percibidas

---

<sup>1</sup> Sound Pressure Level

con un concomitante aumento de la intensidad de la señal en la posición de los machos. Durante este tipo de interacción, de carácter agresivo, los machos de esta especie modifican su producción vocal, alterando la estructura temporal de su canto (Solís, 1994).

Por otra parte, la respuesta de las hembras a las señales acústicas también puede variar durante el ciclo reproductivo. Existe evidencia de que la sensibilidad del sistema auditivo varía en función de la concentración de los niveles de esteroides sexuales. Después del apareamiento la fuerza de la respuesta de las hembras disminuye tanto a estímulos de ruido como a las llamadas de advertencia especie-específica (Miranda y Wilczynski, 2009a). Desafortunadamente, no existen antecedentes en hembras del hemisferio sur, incluidas las de *P. thaul*. Más aún, los antecedentes sobre valores de umbrales auditivos de machos anuros son escasos e inexistentes para hembras.

## **1.2 Efecto de las hormonas en la audición**

Las hormonas reproductivas establecen modulaciones del sistema de comunicación en peces, anfibios y aves, con efectos fácilmente observables a nivel de comportamiento. En los anfibios anuros, los machos y las hembras a menudo difieren en el procesamiento auditivo periférico de estímulos simples, como tonos puros. Sin embargo, poco se sabe acerca de cómo las diferencias de sexo u hormonas influyen en el proceso de señales de comunicación más complejas en el sistema nervioso central (Miranda y Wilczynski, 2009b).

Estudios en hembras de *Physalaemus pustulosus*, han determinado que los niveles de testosterona son más altos justo antes de la expresión máxima de conducta reproductiva, pero posteriormente los niveles bajan cuando las expresiones de conducta reproductiva se vuelven aún más altos (Lynch y Wilczynski, 2005).

En la gran mayoría de especies de aves y anuros, que basan sus interacciones reproductivas en señales acústicas, existe evidencia de un circuito auditivo-endocrino que involucra el sistema GnRH1 (Burmeister y Wilczynski, 2000; Cheng *et al.*, 1998; Maney *et al.*, 2007), gen precursor de la GnRH (hormona liberadora de gonadotropina). Por ejemplo, los estímulos auditivos provenientes de un coro reproductivo aumentan el número células-GnRH hipofisiotróficas y elevan los niveles circulantes de andrógenos en la rana arbórea *Hyla cinérea* (Burmeister y Wilczynski, 2000). Así mismo, la estimulación acústica con sonidos conoespecíficos desencadena la liberación de hormonas luteinizantes en algunas aves (Cheng *et al.*, 1998; Maney *et al.*, 2007).

En estudios realizados en *Porichthys notatus*, un pez nocturno que habita las aguas de la costa Pacífica, se ha determinado la sensibilidad del sistema auditivo de las hembras a las llamadas de cortejo emitidas por el macho. Se ha demostrado que las hormonas reproductivas esteroidales aumentan la sensibilidad del sistema auditivo de la hembra a las llamadas de cortejo del macho (Zakon, 2004). En esta especie, la sensibilidad auditiva varía estacionalmente, según el nivel de estrógeno de la hembra.

Las células ciliadas saculares de hembras reproductivas de este pez tienen umbrales de 8 a 13 dB menos que las hembras no reproductivas (Sisneros, 2009). Por lo tanto, la plasticidad auditiva sacular depende del estado reproductivo y ofrece un mecanismo de adaptación que mejora el acoplamiento entre emisor y receptor, aumentando la probabilidad de detección/localización de la pareja y, potencialmente, mejorando también la adquisición de la información auditiva necesaria para tomar decisiones para la elección de pareja, durante la temporada reproductiva (Sisneros, 2009).

En el mesencéfalo, el *torus semicircularis* (TS), es un área crítica para investigar el rol de las hormonas reproductivas en el proceso de modulación auditiva de señales de comunicación, ya que éste integra la mayoría de las aferencias

auditivas ascendentes entre el tronco cerebral auditivo y los núcleos del cerebro anterior. Esta integración resulta en una especialización dentro del TS para el procesamiento de estímulos complejos, tales como las señales de comunicación, además de los estímulos simples de tonos puros. Así, confirmando la acción de hormonas en este núcleo, se ha descrito la existencia de receptores para testosterona, por ejemplo, en el TS de *Xenopus laevis* y *Rana esculenta* (Miranda y Wilczynski, 2009b). Es decir, el meséncéfalo procesa los estímulos de comunicación y es sensible a las hormonas esteroidales en los machos.

El procesamiento auditivo en el TS es clave en la percepción y comportamiento fonotáctico, sugiriendo que las diferencias de sexo en la sensibilidad relativa del rango de frecuencias entre la PA y la PB pueden influir en la manera como entendemos, en la actualidad, las respuestas de comportamiento a la llamada de advertencia de algunos anuros. Gerhardt (1974) demostró que, conductualmente, las hembras son más sensibles a las amplitudes relativas de la banda espectral de la llamada de advertencia del macho. Umbrales neuronales más altos a frecuencias fuera de las bandas de frecuencias de la llamada de advertencia de machos en hembras de *H. cinérea* sugieren que, en un ambiente ruidoso, el sistema auditivo de las hembras puede filtrar frecuencias que podrían interferir con la detección y discriminación de señales de comunicación (Miranda y Wilczynski, 2009b).

### **1.3 Características del sujeto experimental**

El sujeto de estudio de esta memoria es *Pleurodema thaul* (Figura 1), un anuro de la familia Leptodactylidae (Leiuperidae, según Frost, *et al.*, 2006) cuya distribución se extiende desde Copiapó (27° 22'S – 70° 20'W) en el norte a Aysén (45° 30'S – 70° 20'W) en el sur (Díaz-Páez y Ortiz, 2001).

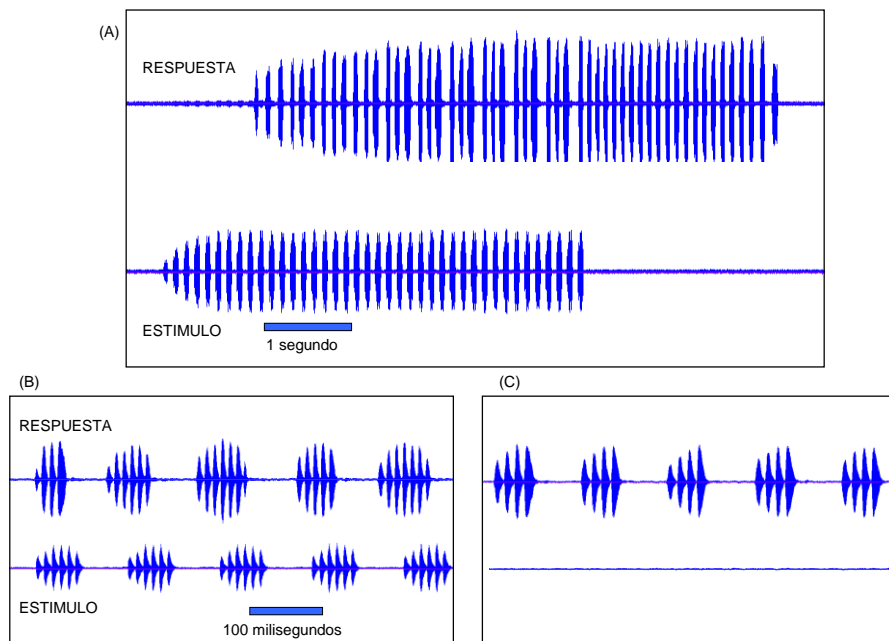


**Figura 1.** Hembra (izquierda) y macho (derecha) de la especie *Pleurodema thaul* que se encuentran entre la vegetación emergente a la orilla de un pequeño arroyuelo de aguas poco profundas y de flujo lento.

*P. thaul* presenta un par de glándulas en posición dorso-caudal, las que asemejan un par de ojos, características que le confieren el nombre vernacular de “sapo de cuatro ojos”. Tiene la piel rugosa y una coloración variable. El tamaño 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 (Ceí, 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).

El ciclo reproductivo de *P. thaul* es casi continuo, con actividad gametogénica en machos y hembras durante otoño, invierno y primavera, con una regresión durante el verano. Ambos sexos parecen ser influenciados por las condiciones medio ambientales verificándose la reproducción desde mediados de invierno hasta fines de primavera (Julio- Diciembre) (Díaz-Páez y Ortiz, 2001).



**Figura 2.** Llamada de advertencia de *Pleurodema thaul*. (A) Ejemplo de respuesta de un macho ante la presentación de un estímulo homoespecífico. Durante el traslapo del estímulo con la respuesta de macho, éste emite pulsos con duración y número de modulaciones de amplitud variable (B). En la porción de la respuesta no traslapada con el estímulo, el macho emite pulsos de duración y número de modulaciones de amplitud homogéneo (C).

En esta época los machos de esta especie vocalizan desde la superficie de arroyuelos de corriente lenta o charcos, posados en la vegetación emergente, con sus sacos vocales inflados.

Las llamadas de advertencia consisten en una larga secuencia de pulsos, con modulaciones de amplitud y con una duración promedio de cuatro segundos (Figura 2A). Esta especie no produce una llamada agresiva específica como en otras especies. Sin embargo, cuando las distancias entre individuos son cortas, los vecinos modifican la estructura temporal de sus llamadas y en vez de producir pulsos con diferentes duraciones y un número variable de modulaciones de amplitud como en la llamada de advertencia normal (Figura 2B), emiten pulsos uniformes con un número constante de modulaciones de amplitud (Figura 2C).



En un coro estable, los machos mantienen distancias interindividuales superiores a 2 m y la intensidad promedio de las llamadas de los vecinos en la posición de un macho componente del coro es de 81 dB SPL (Penna y Solís, 1998). Además, en un estudio reciente se determinó que el umbral auditivo de machos de *P. thaul*, es decir, la mínima intensidad de un estímulo que produce una respuesta vocal, tiene un valor promedio de 43 dB SPL RMS<sup>2</sup> con un rango de 31-52 dB SPL RMS (Penna *et al.*, 2008).

Las diferentes sensibilidades de las ranas para la respuesta vocal evocada podrían estar relacionadas con factores hormonales y sociales. Los niveles de testosterona son más altos en el plasma de machos de *P. thaul* vocalizando espaciados de sus vecinos a distancias inferiores a 7 metros, en comparación con los machos separados a distancias de más de 20 m (Penna *et al.*, 2008).

No obstante, la importancia de este valor umbral para las interacciones sociales acústica de los anuros, son escasos los trabajos que han medido el umbral de respuesta en los machos. Respecto a este valor en hembras, la información disponible es aun más escasa.

---

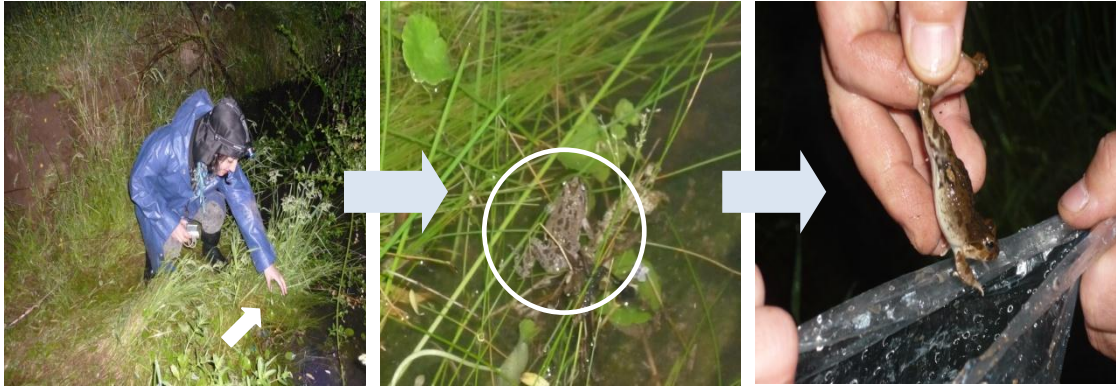
<sup>2</sup> Root Mean Square

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar el umbral de intensidad acústica que evoca una respuesta fonotáctica en hembras de *P. thaul*.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1) Implementar un sistema experimental que permita determinar la respuesta de hembras de *P. thaul* al ser estimuladas acústicamente con la llamada de advertencia especie-específica.
- 2) Determinar la mínima intensidad (umbral) de una llamada de advertencia especie-específica que evoca una respuesta fonotáctica en hembras de *P. thaul*.
- 3) Comparar el umbral de sensibilidad auditiva de las hembras con el descrito en la literatura para machos de esta especie.



**Figura 3.** Proceso de búsqueda y recolección de hembras.

## **2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1 Sitio de estudio**

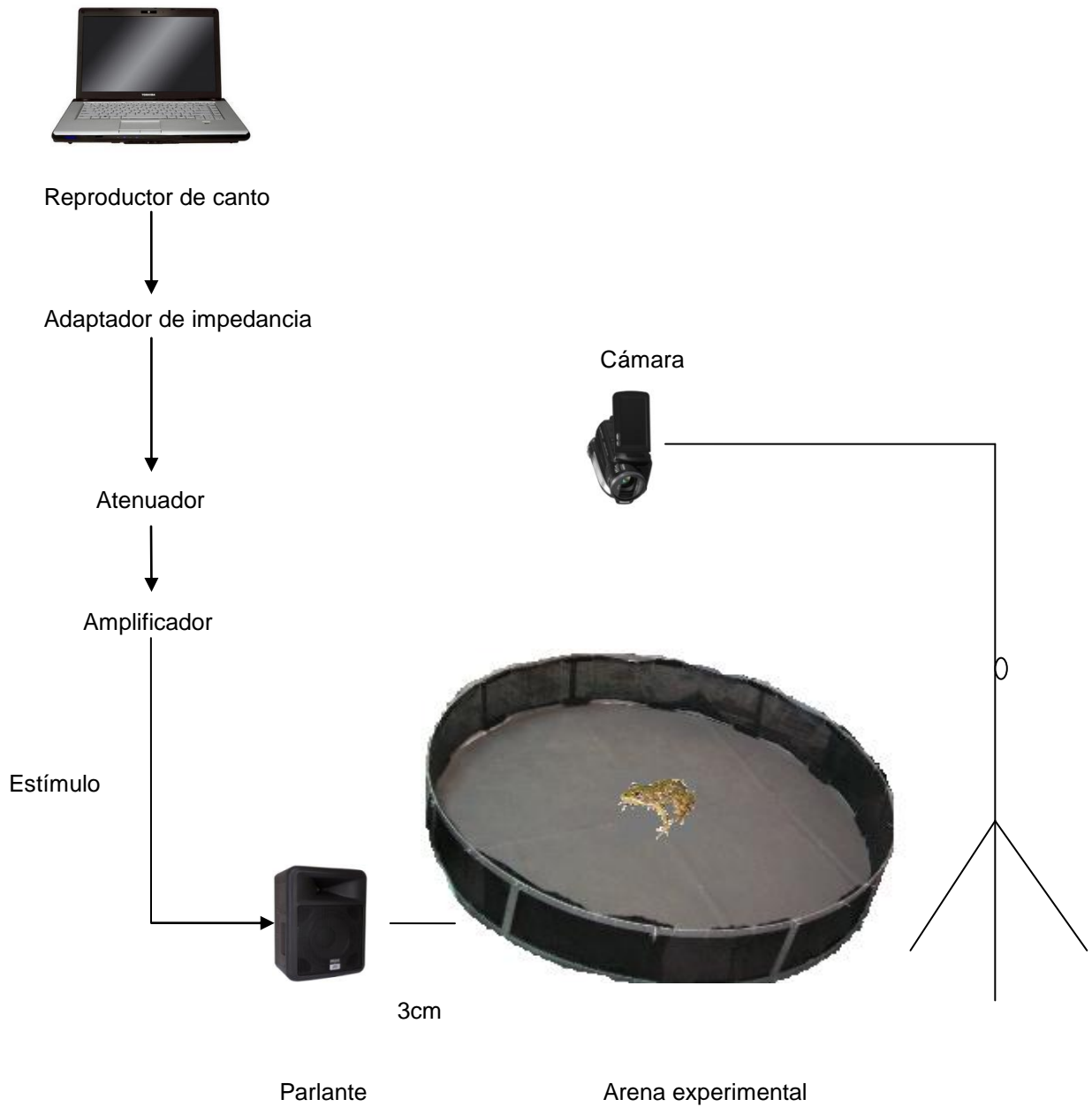
El estudio se realizó en la localidad de Los Maitenes (Lat. 34° 40' S, Long. 71° 27' W, 450 msnm, una zona de secano costero (Región Libertador Bernardo O'Higgins, Chile Central), en donde existe una población de *P. thaul* que se distribuye en el curso de un pequeño arroyuelo de aguas poco profundas, de flujo lento, donde machos y hembras de esta especie se encuentran entre la vegetación emergente de las orillas (Figura 3). En este lugar, se recolectaron hembras, durante el mes de Noviembre del año 2010, entre las 21:00 y las 23:00 hrs., las cuales fueron sometidas al protocolo experimental. La ubicación de las hembras se realizó mediante inspección visual nocturna y su captura fue manual. Con posterioridad a la realización de los experimentos y concluida la campaña en terreno, las hembras fueron liberadas en sus sitios de captura.

## **2.2 Síntesis de estímulos**

Se generaron imitaciones sintéticas del canto de advertencia de *P. thaul* con el programa Adobe Audition 3.0. Debido a que la estructura temporal de esta señal es dependiente de la temperatura del agua, se diseñaron varias versiones de este estímulo, de acuerdo a las funciones de regresión de los parámetros temporales del canto (duración, número de pulsos, frecuencia de pulsos, etc.) con la temperatura del agua registradas en el sitio de estudio (15° - 17°C) (Solís, 1994).

## **2.3 Sistema experimental**

En la Figura 4 se representa el sistema experimental utilizado. El estímulo fue reproducido con un computador (Dell Inspiron 4600), conectado en serie a un adaptador de impedancia, un atenuador (Hewlett-Packard 350 D), un amplificador de 100 W (JBL) y un parlante de 10 cm de diámetro. Este parlante se ubicó en el entorno de una arena experimental circular, cuyo diámetro es de 1,50 m.



**Figura 4.** Esquema de la disposición de los instrumentos utilizados en los experimentos de estimulación. El reproductor del canto se conecta a un adaptador de impedancia, este a un atenuador, el cual se conecta a un amplificador y luego a un parlante, por el cual se reproduce el estímulo hacia la rana.

Previo al inicio del protocolo de estimulación se registró la temperatura al centro de la arena experimental, con un termómetro digital (Digi-Sense 8528-20), para escoger la variante del estímulo más adecuada. La habitación donde se realizaron los experimentos fue iluminada con una luz roja tenue y antes de comenzar cada sesión experimental, se midió la intensidad del ruido ambiental, en la posición del sujeto experimental (centro de la arena experimental) con un sonómetro EXTRECH 407780. La intensidad de reproducción inicial del estímulo se ajustó con el atenuador, para alcanzar una intensidad de sonido menor o igual al ruido ambiental. El ajuste de la intensidad en la posición del individuo experimental se llevó a cabo con el micrófono del sonómetro, posicionándolo justo al centro de la arena experimental, en posición horizontal, apuntando hacia el parlante que reproduce el estímulo. Los experimentos fueron filmados para registrar con mayor precisión los cambios de orientación y/o los movimientos de la hembra. Realizando este procedimiento, cada hembra se ubicó al centro de la arena experimental de manera individual y se presentó el estímulo, comenzando como se señaló anteriormente, con una intensidad igual o menor que la del ruido ambiental. A partir de este valor, la intensidad del estímulo se fue incrementando en pasos de tres decibeles hasta observar algún signo de respuesta en la hembra (respuesta fonotáctica).

#### **2.4 Análisis de las respuestas**

Se realizaron tres presentaciones del estímulo por cada intensidad y se consideró como intensidad umbral aquella a la cual la hembra respondió por primera vez a lo menos a dos de las presentaciones. Para corroborar que efectivamente reaccionó a esa intensidad y que no fue por azar, se repitió el experimento, debiendo la hembra responder nuevamente sólo al alcanzar el valor umbral de intensidad determinado previamente. Por otra parte, las hembras que permanecieron quietas y no evidenciaron respuesta alguna frente al estímulo, hasta alcanzar los 60 db de intensidad, fueron descartadas. Este valor es bastante

superior al umbral de intensidad determinado en machos (Penna *et al.*, 2008) y se encuentra en el rango de intensidades que se producen en las agregaciones reproductivas o coros (Penna y Solís, 1998).

## **2.6 Análisis estadístico**

El umbral auditivo de la hembra de *P. thaul* se representó como el promedio de los valores umbrales determinados para cada una de las hembras y su desviación estándar ( $X \pm DE$ ). Además, los valores obtenidos para las hembras se compararon con los correspondientes valores umbrales determinados en machos de esta especie, reportados en la literatura (Penna *et al.*, 2008). Esta comparación se realizó mediante la prueba no paramétrica de Mann – Whitney.

### 3. RESULTADOS

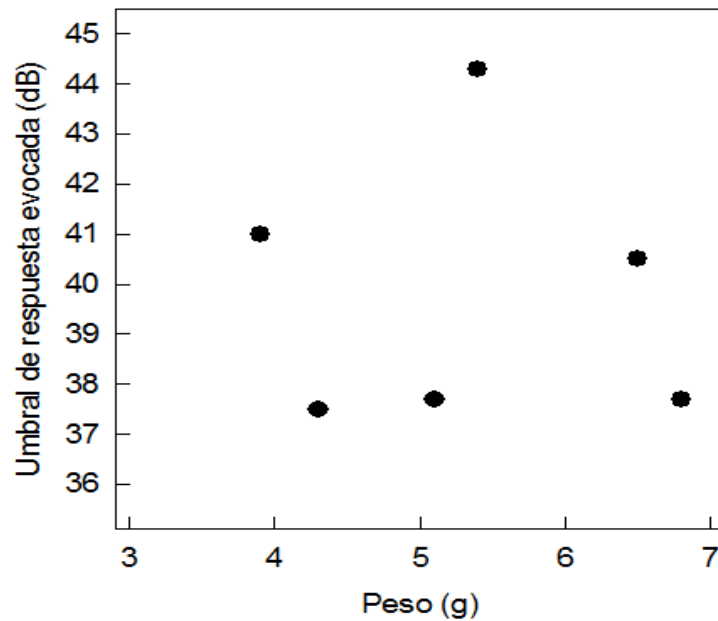
Se capturó un total de 16 hembras de *P. thaul*. Sin embargo, solo 8 de ellas respondieron en forma satisfactoria al protocolo experimental y sólo en éstas se pudo determinar inequívocamente su umbral de respuesta. En las 8 hembras restantes fue imposible determinar su umbral debido a que al momento de realizar el experimento algunas se encontraban inquietas y en el instante de ubicarlas en la arena experimental comenzaban a moverse alrededor de esta. Algunas ranas trataban de escapar trepando por la malla que delimitaba la zona experimental y otras simplemente permanecían quietas sin evidencia de una respuesta frente al estímulo hasta alcanzar los 60 dB de intensidad. A este grupo de hembras se les repitió el protocolo luego de permanecer en reposo por 30 min. Si en esta segunda oportunidad no reaccionaban fueron descartadas.

El peso promedio de las hembras fue 5,2 g (Mín: 3,9 – Máx: 6,8). La temperatura promedio de la arena experimental, lugar donde se realizaron los experimentos, fue de 17,4°C (Mín 14,0 – Máx 20,3), lo que determinó el uso predominante del estímulo correspondiente a 17°C en 11 ocasiones y el de 15°C en el resto de los experimentos (Ver Anexo 1).

El ruido ambiental no varió significativamente promediando los 33,2 dB (Mín 31,2 – Máx 36,0), a la hora en que se realizaban los experimentos (23:00 – 03:00 hrs). A partir de los valores registrados en las ocho hembras, en que se pudo medir su umbral de respuesta, se determinó un valor promedio de intensidad de 40,3 dB (Mín 37,5 – 44,3 Máx). Además, no se determinó la existencia de una correlación estadísticamente significativa entre el peso de las hembras y el umbral de respuesta evocada ( $r_s = 0,001$ ;  $p > 0,05$ ) (Figura 5). Los resultados indican además que también existe independencia del umbral, respecto de la superficie de las hembras ( $p > 0,001$ ) (Figura 6).



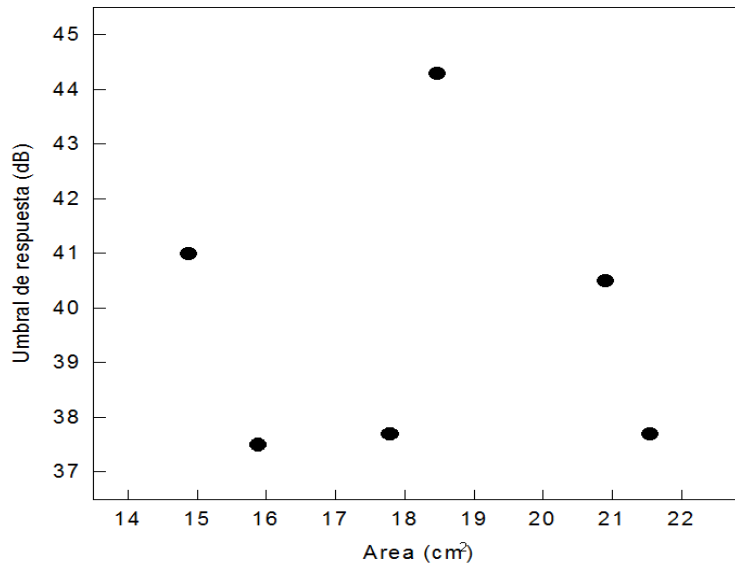
En promedio, las hembras presentaron valores umbrales ligeramente menores que los medidos en machos, pero una comparación de los valores umbrales determinados para las hembras en este estudio, con algunos establecidos para machos por Penna *et al.* (2008)<sup>3</sup> revela la ausencia de diferencia significativa (Prueba de Mann – Whitney;  $Z = 0,30$ ;  $p > 0,05$ ), (Figura 7). No obstante, los machos presentan mayor variación de estos valores (CV = 15,4%) que las hembras, cuyos valores fueron mucho más homogéneos (CV = 2%).



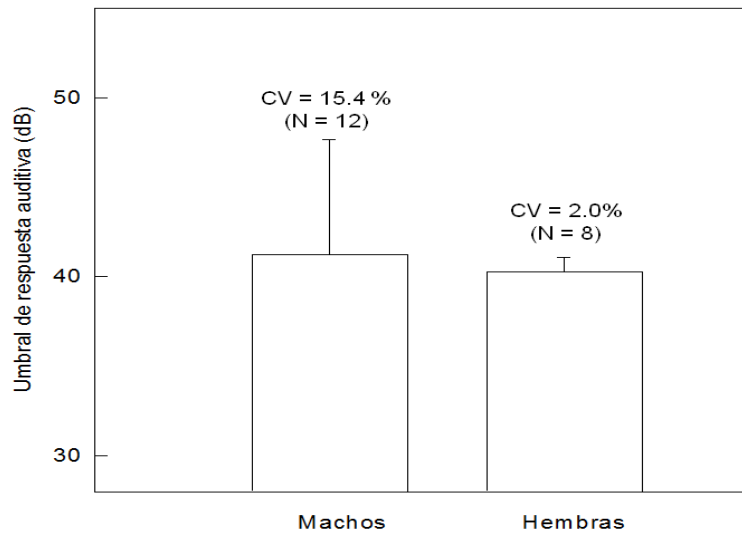
**Figura 5.** Ausencia de correlación entre el peso de las hembras y el umbral de respuesta evocada.

---

<sup>3</sup> Datos facilitados por el autor.



**Figura 6.** Ausencia de correlación entre el área (cm<sup>2</sup>) de las hembras y el umbral de respuesta evocada.



**Figura 7.** Umbrales de respuesta auditiva entre machos y hembra.

#### 4. DISCUSIÓN

Debido a que las interacciones sociales acústicas de *P. thaul* ocurren de noche, existió una serie de dificultades al momento de su captura, como es su ubicación: una quebrada en la cual corre un arroyuelo, donde las hembras se posan en el agua aprovechando la vegetación emergente. Otra dificultad fue el avistamiento, ya que se trata de una especie pequeña y de un color que se mimetiza en la oscuridad de la noche. Estas deben ser localizadas solo mediante inspección visual nocturna. Todas estas dificultades se suman a la de la captura de las hembras, propiamente tal, debido a que éstas no cantan, son muy sensibles y al menor movimiento brusco se introducen en el agua donde ya es imposible encontrarlas. Por otro lado, si la luz de inspección es muy intensa se espantan. Todo lo anteriormente mencionado impidió someter al protocolo experimental un número mayor de ellas. Sin embargo, con paciencia y cautela fue posible capturar un total de 16 hembras.

Los valores umbrales obtenidos en este estudio para la hembra de *P. thaul* resultaron ser levemente menores que los descritos en la literatura para los machos de la misma especie, lo cual es consistente con el hecho de que la hembra es quien elige al macho para aparearse. Esto implica que la hembra, debe poder percibir y distinguir el coro de machos en medio del ruido ambiental y luego dirigirse en su dirección y finalmente elegir entre una gran cantidad de machos cantando. Por esta razón, se esperaría que la hembra sea más sensible y tuviera un umbral de intensidad menor al del macho, tal como sugieren preliminarmente los resultados. Adicionalmente, las hembras presentan valores umbrales más homogéneos (CV=2%) que los machos, cuyos valores son más variables (CV=15,4%). Esto puede deberse a diferencias en el tamaño muestral de machos (N=12) y hembras (N=8). No obstante, estudios posteriores podrían confirmar que esto se deba a diferencias asociadas al sexo.

Respecto al peso de las ranas, se determinó que no existe una correlación de esta variable con el umbral de intensidad de respuesta. Esto se debe a que ninguno de los dos mecanismos a través de los cuales se transmite el sonido, tienen el peso como un factor directamente influyente. Por un lado, una membrana timpánica flexible (tímpano) vibra en el campo de presión sonora y empareja esta vibración en los fluidos del oído interno a través del anclaje del hueso del oído medio. Por otro, aunque a pesar de que el tímpano y la cadena de huesecillos son importantes en la transmisión del sonido, la audición es aún posible cuando el acceso al oído medio está bloqueada. La razón es que la transmisión extratimpánica del sonido, a menudo conduce el sonido a través de los huesos, lo cual proporciona una ruta paralela al oído interno (Wilczynski *et. al.* 1987). Por otra parte, *P. thaul* presenta dimorfismo sexual, siendo las hembras de mayor tamaño que los machos. Esto se traduce en una mayor superficie corporal que podría facilitar la percepción del sonido por vía extratimpánica, a lo cual se podría atribuir la tendencia a presentar valores umbrales ligeramente menores que los machos. Sin embargo, al hacer una estimación de la superficie corporal de las hembras y correlacionarla con sus respectivos valores umbrales no se determinó una correlación estadísticamente significativa.

Los resultados de este trabajo para determinar el umbral de intensidad acústica que evoca respuesta en hembras del anuro *P. thaul*, corresponde a un estudio preliminar, que servirá de complemento y punto de partida para investigaciones futuras, siendo éstas en la actualidad inexistentes en hembras y escasas en machos de esta u otra especie. Por otro lado, la información obtenida sobre las respuestas evocadas de esta especie, aporta un mayor conocimiento acerca de su conducta reproductiva, lo cual es de suma importancia para su conservación.

Finalmente, y también en el ámbito de la conservación de la biodiversidad en el último tiempo varios trabajos han descrito el negativo efecto que puede tener el ruido ambiental en la actividad reproductiva de las especies y de los anuros en particular (Lengagne 2008; Chan y Blumstein 2011). Así, se ha determinado en

varias especies que la contaminación acústica es particularmente perjudicial ya que afecta la actividad reproductiva y la adecuación biológica (fitness) de los anuros. En este contexto, el presente estudio adquiere particular relevancia, ya que al conocer el umbral auditivo de las hembras, se puede predecir aquellas intensidades de ruido ambiental que más probablemente afectarían su conducta vocal y reproductiva.

## 5. CONCLUSIONES

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

- Las hembras de la especie *Pleurodema thaul* tienen un umbral de intensidad acústica de respuesta fonotáctica promedio de 40,3 dB.
- El umbral de sensibilidad auditiva de la hembra del anuro *Pleurodema thaul* no difiere estadísticamente del reportado en la literatura para machos de esta misma especie.
- El umbral aquí obtenido indicaría que ruidos ambientales mayores a 40 dB podrían interferir con la actividad reproductiva de esta especie.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

**BURMEISTER, S ; WILCZYNSKI, W.** 2000. Social signals influence hormones independently of calling behavior in the treefrog (*Hyla cinerea*). *Hormones and Behavior* 38, 201-209.

**CEI, J.** 1962. *Batracios de Chile*. Ed. Universidad de Chile pp 128.

**CHANG, A ; BLUMSTEIN, D.** 2011. Attention, noise, and implications for wildlife conservation and management. *Applied Animal Behaviour Science* 131, 1-7

**CHENG, M.F ; PENG, J.P ; JOHNSON, P.** 1998. Hypothalamic neurons preferentially respond to female nest co stimulation: demonstration of direct acoustic stimulation of luteinizing hormone release. *The Journal of Neuroscience* 18, 5477-5489.

**DÍAZ-PÁEZ, H ; ORTIZ, J.** 2001. The reproductive cycle of *Pleurodema thaul* (Anura, Leptodactylidae) in central Chile. *Amphibia-Reptilia* 22, 431-445.

**DÍAZ-PÁEZ, H ; ORTIZ, J.** 2003. Feeding habits of *Pleurodema thaul* (Anura, Leptodactylidae) in Concepción, Chile. *Gayana* 67 (1), 25-32.

**FROST, D ; GRANT, T ; FAIVOVICH, J et al.** 2006. The amphibian tree of life. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 297, 1-370.

**GERHARDT, H.C.** 1974. The significance of some spectral features in mating call recognition in the green treefrog (*Hyla cinerea*). *The Journal Experimental Biology* 61, 229-241.

**GERHARDT, H.C ; SCHWARTZ, J.J.** 2001. Auditory tuning and frequency preferences in anurans In: Anuran communication. Ryan M.J. (ed). Smithsonian Institution Press. Washington E.E.U.U.

**GOENSE, J ; FENG, A.** 2005. Seasonal changes in frequency tuning and temporal processing in single neurons in the frog auditory midbrain. *Journal of Neurobiology* 65, 22-36.

**LENGAGNE, T.** 2008. Traffic noise affects communication behavior in a breeding anuran, *Hyla arborea*. *Biological Conservation* 141, 2023-2031.

**LYNCH, K.S ; WILCZYNSKI, W.** 2005. Gonadal steroids vary with reproductive stage in a tropically breeding female anuran. *General and Comparative Endocrinology* 143, 51-56.

**MANEY, D.L ; GOODE, C.T ; LAKE, J.L. et al.** 2007. Rapid neuroendocrine responses to auditory courtship signals. *Endocrinology* 148, 5614-5623.

**MIRANDA, J ; WILCZYNSKI, W.** 2009a. Female reproductive state influences the auditory midbrain response. *Journal of Comparative Physiology A* 195, 341-349.

**MIRANDA, J ; WILCZYNSKI, W.** 2009b. Sex differences and androgen influences on midbrain auditory thresholds in the green treefrog, *Hyla cinerea*. *Hearing Research* 252, 79-88.

**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 ; VELÁSQUEZ, N ; SOLÍS, R.** 2008. Correspondence between evoked vocal responses and auditory thresholds in *Pleuroderma thaul* (Amphibia; Leptodactylidae). *Journal of Comparative Physiology A* 194, 361- 371.
- RAND, A.** 1988. An overview of anuran acoustic communication. The evolution of the amphibian auditory system. Wiley. Nueva York pp 416-422.
- ROSE, G ; BRENOWITZ, EA.** 1991. Aggressive thresholds of male pacific treefrogs for advertisement calls vary with amplitude of neighbors calls. *Ethology* 89, 244-252.
- ROSE, G ; BRENOWITZ, EA.** 1997. Plasticity of aggressive thresholds in *Hyla regilla*: discrete accommodation to encounter calls. *Animal Behavior* 53, 353-361.
- SISNEROS, J.** 2009. Seasonal plasticity of auditory saccular sensitivity in the vocal plainfin midshipman fish, *Porichthys notatus*. *Journal of Neurophysiology* 102, 1121-1131.
- SOLÍS, R.** 1994. Factores moduladores de las interacciones sociales acústicas de *Pleuroderma thaul*. Tesis de Doctorado, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- STEBBINS, R ; COHEN, N.** 1997. Natural history of amphibians. Princeton University Press. New Jersey, United States of America. pp. 67-88.
- WILCZYNSKI, W. ; RESLER, C. ; CAPRANICA, R.** 1987. Timpanic and extratympanic sound transmission in the leopard frog. *Journal of Comparative Physiology A* 161, 659-669.
- WELLS, K.** 1977. The social behavior of anurans amphibians. *Animal Behavior* 25, 666-693.
- ZAKON, H.** 2004. Heeding the hormonal call, *Science* 305, 349.

**7. ANEXO 1:** Valores umbrales de intensidad y otras variables medidas en las hembras.

<b>Identificación Individuo</b>	<b>Peso (g)</b>	<b>T° Arena °C</b>	<b>T° Estímulo °C</b>	<b>Ruido Ambiente</b>	<b>Umbral (db)</b>
PTH 10-01	–	–	15	32,8	42,4
PTH 10-02	3,9	20,3	17	35,0	41,0
PTH 10-03	5,1	14	15	32,2	37,7
PTH 10-04	6,8	14	15	32,2	37,7
PTH 10-05	–	15,3	15	34,5	<b>Descartada</b>
PTH 10-06	5,4	14,6	15	34,5	44,3
PTH 10-07	4,4	15,3	17	33,0	<b>Descartada</b>
PTH 10-08	6,5	17	17	33,0	40,5
PTH 10-09	4,3	17	17	33,0	37,5
PTH 10-10	–	17	17	31,2	<b>Descartada</b>
PTH 10-11	–	19,4	17	31,2	<b>Descartada</b>
PTH 10-12	–	19,4	17	31,2	<b>Descartada</b>
PTH 10-13	–	19,4	17	31,2	<b>Descartada</b>
PTH 10-14	–	–	17	34,8	41,25
PTH 10-15	–	20,2	17	36,0	<b>Descartada</b>
PTH 10-16	–	20,2	17	36,0	<b>Descartada</b>

<b>Promedio</b>	5,2	17,4	16,4	33,2	40,3
<b>Desv Est</b>	1,1	2,4	1,0	1,7	2,5
<b>Coef. Var.</b>					2,0%
<b>Mínimo</b>	3,9	14,0	15,0	31,2	37,5
<b>Máximo</b>	6,8	20,3	17,0	36,0	44,3

[Desv. Est.: Desviación estándar; Coef. Var.: Coeficiente de Variación].