

UCH-FC
DOC-B
S687

FACTORES MODULADORES DE LAS INTERACCIONES SOCIALES
ACUSTICAS DE Pleurodema thaul

Tesis
Entregada a la
Universidad de Chile
en cumplimiento parcial de los requisitos
para optar al grado de
Doctor en Ciencias con mención
en Biología

Facultad de Ciencias

por

Rigoberto Antonio Solís Muñoz

1994

Director de Tesis: Dr. Mario Penna Varela



FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE

INFORME DE APROBACION
TESIS DE DOCTORADO

Se informa a la Escuela de Postgrado de la Facultad de Ciencias que la Tesis de Doctorado presentada por el candidato:

RIGOBERTO ANTONIO SOLIS MUÑOZ

Ha sido aprobada por la Comisión de Informante de Tesis como parte de los requisitos para optar al grado de Doctor en Ciencias con mención en Biología.

Director de Tesis:

Dr. Mario Penna Varela



Comisión Informante de Tesis:

Dr. Raúl Godoy

Dr. Luis Robles

Dr. Mario Rosenmann

Dr. Alberto Veloso



AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres, hermana y sobrinas por su amor y apoyo incondicional.

Al Dr. Mario Penna V., tutor y amigo, por su confianza y consejos.

Al Dr. Mario Rosenmann por su amistad y apoyo constante.

A la Comisión Informante de esta tesis por sus valiosos comentarios.

A Raquel Cepeda, por su amistad e invaluable ayuda en las determinaciones de edad ósea.

A Pablo Sepúlveda, por su colaboración en terreno.

A Fernando Novoa, por su amistad y colaboración en la impresión de la tesis.

A Eduardo Kessi, por su amistad y colaboración y a mis colegas del laboratorio de Ecofisiología y al Grupo de Ecología y Conducta, por su aliento constante.

A las familias Alvear Celis y Díaz Hinojosa, por su hospitalidad durante la permanencia en terreno.

A Mauricio Canals y Waldo Mora, por su asesoría estadística y enriquecedoras ideas.

A la Facultad de Cs. Veterinarias y Pecuarias, por las facilidades otorgadas para la realización de la tesis.

A FONDECYT por Beca Doctoral. Esta tesis fue financiada por FONDECYT 51/92 y por la Vicerrectoría Académica de la Universidad de Chile.

INDICE DE MATERIAS

	Pág.
Lista de Tablas.....	vi
Lista de Figuras.....	vii
Lista de Abreviaturas.....	ix
Resumen.....	x
Abstract.....	xii
1. INTRODUCCION.....	1
1.1 Influencia del tamaño, edad y condición nutricional en los componentes del canto.....	6
1.2 Regulación hormonal de la conducta vocal.....	8
1.3 Conducta y espaciamento de los machos en los coros.....	11
2. MATERIALES Y METODOS.....	14
2.1 Procedimientos de terreno.....	14
2.2 Registro y análisis de las vocalizaciones.....	15
2.3 Determinación de las edades.....	15
2.4 Estimación de la condición nutricional.....	16
2.5 Determinaciones hormonales.....	16
2.6 Espaciamento de los machos y experimentos de estimulación.....	18

3. RESULTADOS.....	21
3.1 Variación de la temperatura.....	21
3.2 Observaciones conductuales.....	21
3.3 Relaciones entre los parámetros del canto y la temperatura.....	24
3.4 Cronología ósea.....	26
3.5 Relaciones entre edad, talla, condición nutricional y características del canto.....	26
3.6 Variación estacional de la testosterona.....	31
3.7 Efecto de la manipulación en los niveles de T.....	31
3.8 Relaciones entre testosterona, conducta vocal, características físicas y circunstancia social.....	33
3.9 Espaciamiento e intensidad de las vocalizaciones.....	37
4. DISCUSION.....	43
4.1 Estructura etaria de los coros de <u>P. thaul</u>	43
4.2 Efecto de la temperatura en la estructura del canto.....	44
4.3 Influencia de la condición nutricional en los componentes temporales del canto.....	46
4.4 Influencia de los niveles de testosterona en la conducta vocal de <u>P. thaul</u>	48
4.5 Espaciamiento y conducta vocal de <u>P thaul</u> . en las agregaciones reproductivas.....	51

5 CONCLUSIONES.....	58
BIBLIOGRAFIA.....	61

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Clasificación de las vocalizaciones de anuros machos de acuerdo a la circunstancia en que son emitidas (Rand, 1988)	2
Tabla 2. Promedios, rangos y regresiones lineales de los parámetros del canto con la temperatura del agua. (n=45 para todas las variables; Rango de temperaturas 8.8-24.5°C)	25
Tabla 3. Coeficientes de correlación entre atributos de los machos y parámetros del canto. Los parámetros temporales fueron ajustados a 15 °C. (n=38; * p < 0.05)	29
Tabla 4. Promedios y rangos de presiones de sonido del canto de advertencia y distancias interindividuales medidas en distintas condiciones sociales naturales	38
Tabla 5. Experimentos de Estimulación. Intensidad de los estímulos (Ie) y de las respuestas de los machos (Ir)	41

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura del canto. Esquemas de oscilogramas con diferente velocidad de barrido donde se muestran los componentes temporales del canto de un anuro tipo	3
Figura 2. Variación de la temperatura en los sitios de estudio. (0 Agua 0 Aire)	22
Figura 3. Cortes transversales a través de la diáfisis de falanges de machos de <u>Pleurodema thaul</u> . (a), (b), (c): individuos de 2, 4 y 7 años, respectivamente. (x 150)	27
Figura 4. Distribución de frecuencias de edades basado en el análisis de la edad ósea (n=60)	28
Figura 5. Relación entre la talla y el número de líneas de detención de crecimiento	28
Figura 6. Relación entre la frecuencia dominante y la talla	30
Figura 7. Relación entre la duración del canto y la condición nutricional	30
Figura 8. Variación de los niveles de T en la temporada reproductiva 1993 en Aguas Buenas	32
Figura 9. Efecto de la manipulación y mantención en cautiverio en la concentración de T plasmática	32
Figura 10. Relación entre el nivel de T y el número de pulsos del canto	34
Figura 11. Relación entre el nivel de T y la temperatura del sitio en que se encontraban los machos	34

Figura 12. Variación de los niveles de T con la edad de los machos 36

Figura 13. Efecto de interacciones sociales en los niveles de T. La diferencia entre ambas condiciones es significativa ($p < 0.05$) 36

Figura 14. Niveles de T de los machos según circunstancia sexual. Los valores no difieren significativamente 37

Figura 15. Presiones de sonido del canto emitido por machos en diferentes circunstancias sociales. Las diferencias en SPL son significativas ($p < 0.05$) 39

Figura 16. Frecuencia de intensidades de sonido (SPL) del canto de vecinos más próximos a machos que conformaban parte de un coro 39

Figura 17. Experimentos de estimulación. Respuestas de los machos a intensidades variables de estimulación 42

LISTA DE ABREVIATURAS

- AVT : Argininasotocina
DHT : Dihidrotestosterona
LCD : Línea de Detención de Crecimiento
RMS : Root Mean Square
SPL : Sound Pressure Level
SPL re: SPL relativa a un nivel de referencia
T : Testosterona

RESUMEN

Se investigó la influencia de la talla, condición nutricional y nivel de testosterona circulante en la conducta vocal de machos de P. thau y se estudió el rol de las interacciones acústicas en la distribución espacial de los machos en las agregaciones reproductivas.

La frecuencia dominante del canto de advertencia, se correlaciona inversamente con la talla. La edad ósea está correlacionada con la talla, pero no con la frecuencia dominante. La variación de los parámetros temporales, con excepción de la duración del canto, es explicada en gran parte por la temperatura en el sitio de registro. La duración del canto está significativamente correlacionada con la condición nutricional, medida con el índice de Quetelet [peso/(talla)²].

La frecuencia dominante y la duración del canto de advertencia son potenciales indicadores de las cualidades de un macho para los individuos coespecíficos de ambos sexos.

Las interacciones sociales tienen influencia sobre los niveles de testosterona. Las concentraciones plasmáticas de este andrógeno fueron significativamente menores en machos

aislados, que en machos que interactuaban vocalmente en los coros. Además, se encontró que los niveles de testosterona estaban positivamente correlacionados con el número de pulsos del canto.

Los niveles de presión de sonido de los cantos emitidos por los individuos que conformaban coros, fueron más altos que los producidos por machos aislados. Resultados de experimentos de estimulación acústica, sugieren una respuesta gradual en los encuentros agresivos de los machos. Aparentemente, la intensidad del canto regula la conducta de espaciamiento en este anuro.

ABSTRACT

The influence of individual male attributes and relationships between hormonal status and spacing patterns with vocal behavior of males of Pleurodema thaul occurring in natural choruses were studied.

Dominant frequency of the advertisement call covaries inversely with size. Skeletochronological age is correlated with size but not with dominant frequency. Variation of temporal parameters other than call duration is explained mainly by temperature of recording. Call duration is significantly correlated with nutritional status as measured by body mass index [body weight/(body length)²] (Quetelet index).

Dominant frequency and duration of the advertisement call are potential indicators of male quality for conspecific individuals of both sexes.

Social interactions affect testosterone levels. Isolated males had lower plasma concentrations of this androgen than males interacting vocally in choruses. Also, testosterone levels were positively correlated with number of pulses of male calls.

Sound pressure level of calls given by chorusing individuals were higher than those produced by isolated males. Playback experiments suggest a gradual vocal response in male-male encounters. Call intensity apparently regulates spacing behavior in this anuran.

1.- INTRODUCCION

El conocimiento sobre la conducta social en anuros ha experimentado un notable desarrollo en las últimas dos décadas (e.g. Wells, 1977, 1988). Los avances tecnológicos en la instrumentación y análisis acústico, han permitido profundizar en el conocimiento de las interacciones sociales en estos vertebrados, basadas principalmente en vocalizaciones.

Las señales acústicas emitidas por los anuros son especie-específicas, estereotipadas y acotadas en su repertorio (Wilczynski y Ryan, 1988). Una clasificación de estas señales, de acuerdo a la situación en que son emitidas, revela que casi en su totalidad están relacionadas con la reproducción (Rand, 1988; Tabla 1). A nivel individual, el canto de los anuros machos presenta una gran variabilidad y tal variación tiene importancia para entender la comunicación intraespecífica (Wells, 1988). De la variación de la amplitud en el tiempo (componentes temporales) y de las frecuencias (componente espectral) que conforman las señales acústicas, se deducen parámetros que permiten caracterizar y estimar la variación que experimentan las vocalizaciones en diferentes circunstancias sociales y relacionar su estructura con diversas características de los individuos que las emiten (Fig. 1).

Tabla 1. Clasificación de las vocalizaciones de anuros machos de acuerdo a la circunstancia en que son emitidas (Rand, 1988).

Tipo de canto	Función / Contexto
Advertencia	Atracción de las hembras e indicación de su presencia a otros machos. Frecuentemente, emitido en forma repetida y en coro con otros machos.
Cortejo	Ante la proximidad de una hembra.
Agresivo	En interacciones agresivas entre machos por disputa de una hembra, generalmente seguido de ataque o persecución. Eventualmente, macho en defensa de huevos.
Liberación	Evitación de un amplexo o intento de amplexo.
Alarma	Al ser capturado por un predador o al escapar de él.

Los cantos de advertencia emitidos por los machos en las agregaciones reproductivas (coros), contienen información espectral y/o temporalmente codificada, que permite el reconocimiento de las especies (Gerhardt, 1988). Esta información, que también puede ser relevante para la atracción de pareja y el espaciamiento entre los machos en los coros (Rand, 1988), frecuentemente señala atributos físicos de los emisores (e.g.: Arak, 1983, Ramer et al, 1983).

La competencia entre los machos anuros por la obtención de pareja, depende en gran medida del patrón espacial y temporal de reproducción de las especies. Los anuros que

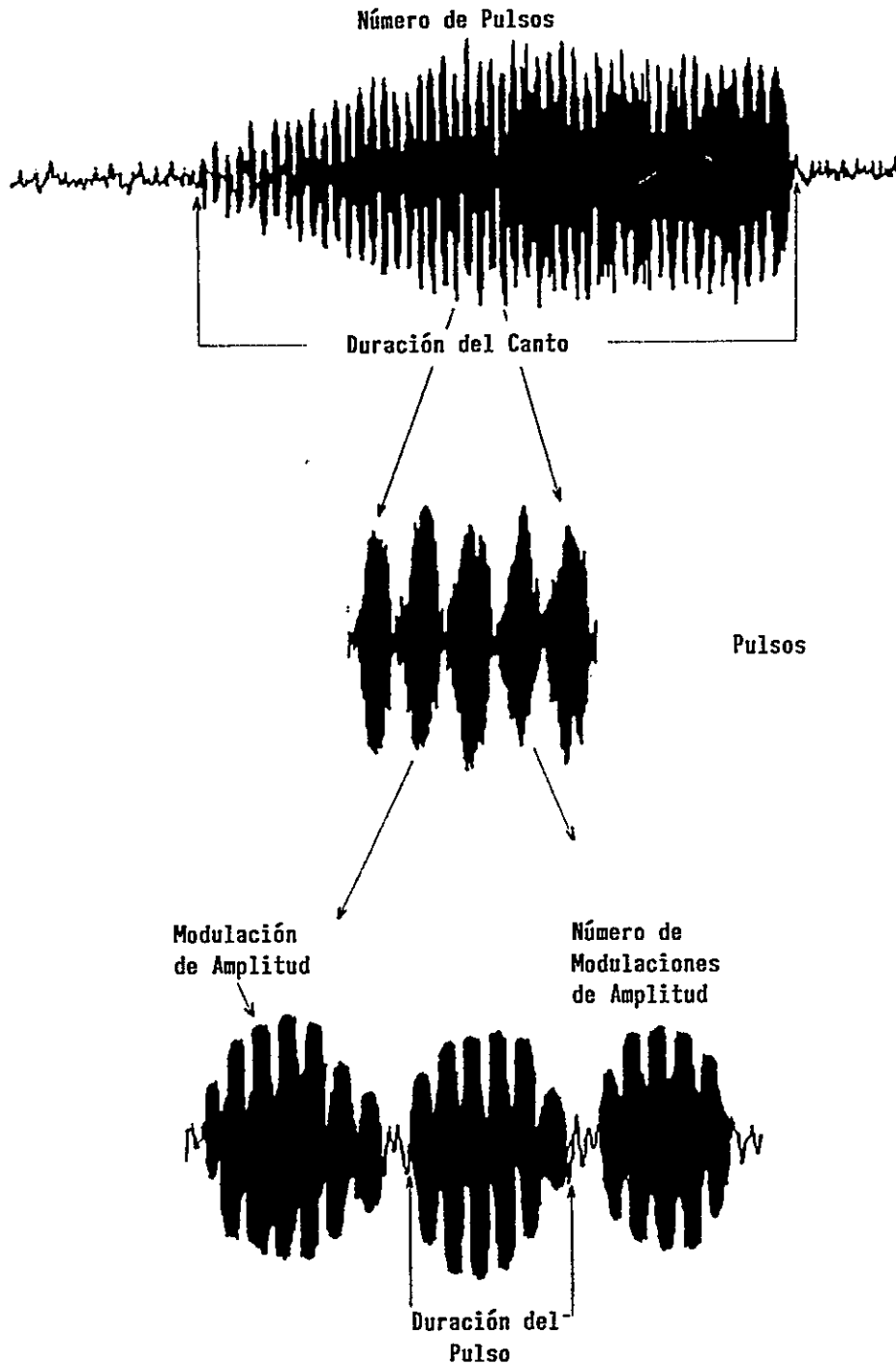


Fig. 1. Estructura del canto. Esquemas de oscilogramas con diferente velocidad de barrido donde se muestran los componentes temporales del canto de un anuro tipo.

presentan cortos períodos reproductivos son denominados "reproductores explosivos". Se caracterizan por conformar densas agregaciones, en las cuales los machos buscan activamente a las hembras y se desarrolla una intensa competencia por su posesión. En cambio, los "reproductores prolongados" conforman agregaciones reproductivas que persisten durante más de un mes y los machos compiten vocalmente para atraer a las hembras a sus sitios de canto (Wells, 1977). En esta última modalidad de reproducción, la conducta vocal adquiere mayor relevancia para el éxito reproductivo de los machos (Gerhardt, 1987; Roithmair, 1992; Sullivan, 1989), ya que, la variación de las propiedades acústicas de los cantos de advertencia, está relacionada con los patrones de preferencia de las hembras por esas mismas propiedades (Gerhardt, 1991).

El conocimiento actual sobre la conducta social de los anuros está basado, fundamentalmente, en especies del hemisferio norte. En nuestra batracofauna, son escasos los trabajos conductuales. En esta tesis se estudió la conducta social de Pleurodema thaul, miembro de la familia Leptodactylidae. Pleurodema thaul es un sapo con amplia distribución en Chile, que presenta un prolongado período reproductivo que comprende desde el inicio de la primavera hasta el principio del verano. Durante este período, los machos conforman coros en pozas y charcos, donde emiten su

canto de advertencia. Comparada con la de otros anuros, esta vocalización es muy prolongada y está compuesta de numerosos pulsos de amplitud modulada (Penna y Veloso, 1990). Durante las interacciones agonistas, que ocurren en los coros con alta densidad de individuos, los machos de P. thaul producen un canto de advertencia con pulsos más prolongados (Penna y Solís, 1992).

La peculiar duración del canto de advertencia de P. thaul y su condición de reproductor prolongado, confieren a este anuro interesantes características para el estudio de diversos factores que pueden afectar su conducta vocal e interacciones sociales.

Diversos estudios han demostrado en forma específica la influencia de factores ambientales, fisiológicos y sociales en la conducta vocal de los anuros (e.g. Brenowitz y Wilczynski, 1984; Moore y Deviche, 1988; Pough et al, 1992; Wells, 1977). Sin embargo, pocos trabajos han analizado en forma integrada los efectos de estos factores, en la estructura del canto.

La evidencia acumulada en años recientes, basada en el estudio de animales en condiciones naturales, indica que una variedad de señales hormonales, sociales y ambientales activan conductas reproductivas en los vertebrados adultos (Crews y Moore, 1986). Estas observaciones han conducido a

la formulación del "modelo de múltiples vías", en el cual las hormonas esteroidales sexuales son sólo una de muchas vías por las cuales la información ambiental afecta los centros reguladores de la conducta (Moore y Marler, 1988). En contraposición a este modelo, tradicionalmente se ha pensado que factores ambientales, sociales y del medio interno, influyen la conducta reproductiva a través de sus efectos en los niveles de hormonas esteroidales sexuales ("modelo de la vía final común").

El modelo de múltiples vías, surgido en un contexto evolutivo, intenta explicar la influencia variable de las hormonas esteroidales sexuales en la conducta reproductiva de diferentes especies de vertebrados. En esta tesis, este modelo ha sido extendido a nivel individual, con el fin de conceptualizar la manera en que diversos factores pueden afectar la conducta vocal de los anuros.

1.1.- INFLUENCIA DEL TAMAÑO, EDAD Y CONDICION NUTRICIONAL EN LOS COMPONENTES DEL CANTO.

La actividad vocal de los anuros machos es modulada por factores ambientales, sociales e individuales. Entre las variables ambientales, los efectos de la temperatura en la estructura del canto han sido extensamente estudiados en varias especies de anuros. Frecuentemente, los parámetros temporales del canto presentan una marcada dependencia de

la temperatura (e.g. Gayou, 1984; Gerhardt, 1982; Sullivan, 1982; Wagner, 1989a; Zweifel, 1968).

La talla de los machos, se correlaciona negativamente con la frecuencia dominante del canto en varias especies de anuros (e.g. Davies y Halliday, 1978; Sullivan, 1982; Wagner, 1989b; Zweifel, 1968). Tal variación de la estructura espectral con la talla afecta la elección de pareja en las hembras (Ryan, 1983; Robertson, 1986) e influencia las interacciones agonistas entre los machos anuros (Arak, 1983, 1988; Davies y Halliday, 1978; López et al, 1988; Ramer et al, 1983; Wagner, 1989b, 1992). También ha sido estudiada la influencia de la condición nutricional en la actividad vocal de los machos. La vocalización es una conducta que demanda gran cantidad de energía (e.g. Wells y Taigen, 1986, Bucher et al, 1982) y se demostró que la eficiencia de los machos en los coros está limitada por restricciones energéticas (Cherry, 1993; Given, 1988; Tejedo, 1992).

La variación del canto con la edad de los machos ha sido poco investigada. Sólo un estudio, realizado en un hílido norteamericano que consideró esta variación, informó que la edad ósea y la frecuencia dominante están correlacionados con la talla (Lykens y Forester, 1987).

El primer objetivo de esta tesis es determinar la

contribución de la edad, talla y condición nutricional, a la variabilidad interindividual en la estructura del canto de los machos de Pleurodema thaul.

1.2.- REGULACION HORMONAL DE LA CONDUCTA VOCAL

La conducta reproductiva de los anfibios es afectada, como en otros vertebrados, por el sistema neuroendocrino. Los anuros machos que habitan zonas templadas presentan actividad reproductiva estacional (Moore y Deviche, 1988; Duellman, 1992; Wells, 1977). Las especies con este tipo de reproducción, presentan una variación concomitante en sus niveles de andrógenos (Licht et al, 1983; Mendonca et al, 1985; Moore et al, 1983; Zerani et al, 1991).

La influencia de hormonas esteroidales y neuropéptidos en la mantención y activación de conductas reproductivas ha sido demostrada en varias especies de urodelos y anuros, cuyos ciclos reproductivos están correlacionados con cambios estacionales en sus niveles hormonales (Moore, 1983). Diversos estudios indican que en los anfibios machos los esteroides testiculares; testosterona (T) y 5 α -dihidrotestosterona (DHT) y el neuropéptido argininasotocina (AVT), son los factores hormonales predominantes en la regulación de la conducta sexual (Moore y Deviche, 1988). Más aún, Moore (1978) ha mostrado que existe un efecto sinérgico entre estos factores. De

acuerdo a estos resultados, los andrógenos tendrían un rol permisivo en las conductas sexuales, en tanto que, los neuropéptidos activarían estas conductas.

En los anuros machos, se conoce poco la relación entre niveles de andrógenos y manifestaciones conductuales reproductivas. En condiciones naturales, se ha establecido en Eleutherodactylus coqui, que una disminución en los niveles de T están asociados con el inicio, pero no con la mantención del cuidado parental (Towsend et al, 1987; Towsend et al, 1991). En Rana catesbeiana, el inicio de la actividad vocal y el establecimiento de territorios se correlacionó positivamente con un incremento en los niveles de T y DHT, en un muestreo a nivel poblacional. Sin embargo, a nivel individual, no se encontró una correlación entre estos andrógenos y la actividad vocal y defensa territorial (Mendonca et al, 1985).

En anuros, esteroides gonadales regulan las conductas sexuales a nivel de algunos núcleos del sistema nervioso central y en las vías sensoriales y motoras (Moore y Deviche, 1988). En anuros machos, los factores hormonales (T, DHT y AVT) afectan la producción y percepción de señales acústicas (Moore y Deviche, 1988; Penna et al, 1992). Estudios autorradiográficos indican que neuronas de áreas y núcleos cerebrales involucrados en la percepción y emisión de señales acústicas, concentran T y

5 α -dihidrotestosterona (Kelley, 1980; Wetzel y Kelley, 1983). Además, la T influye en la diferenciación sexual de estructuras neurales involucradas en la vocalización de los machos (canto de advertencia y de liberación) y un efecto masculinizante de éstas en las hembras (Schmidt, 1980, 1982, 1983). En Rana pipiens los músculos laríngeos intrínsecos presentan actividad electromiográfica estrechamente asociada con la producción de sonidos (canto de liberación), evocados por estimulación de núcleos (e.g.: tegmento del istmo-trigeminal, area preóptica) que concentran T (Schmidt, 1980). Se cree que la testosterona actuaría directamente sobre estas estructuras, sin requerir su conversión a estradiol (Kelley, 1978; Schmidt, 1982, 1983), como se creía previamente (Callard et al, 1978).

Resultados de estudios realizados en condiciones de laboratorio, en que se ha utilizado la administración exógena de andrógenos, sugieren que estos esteroides regularían la vía final común para la conducta vocal (Kelley, 1980), pero sus variaciones y efectos en la estructura del canto, en condiciones naturales, no ha sido investigada.

El segundo objetivo de este trabajo es analizar la influencia de la testosterona en la estructura temporal y espectral del canto de advertencia de P. thaul, en individuos que interactúan socialmente en condiciones

naturales.

1.3.- CONDUCTA Y ESPACIAMIENTO DE LOS MACHOS EN LOS COROS

Características comunes de la conducta social y estructura de los coros de anuros machos con reproducción prolongada, son: i) la emisión de cantos desde posiciones temporalmente estables y ii) la mantención de espaciamiento entre los individuos que cantan (Wells, 1977). La mayoría de los machos de las especies de este tipo, emiten cantos agresivos o de encuentro ante la proximidad de otros machos y cantos de advertencia que indican su presencia a otros machos y que también atraen a las hembras de su especie (e.g. Backwell y Passmore, 1990a; Brzoska y Schneider, 1982; Wagner Jr., 1989; Whitney, 1980).

En varias especies de anuros se ha determinado que existe una distribución no aleatoria de los machos que conforman coros (e.g. Awbrey, 1978; Dyson y Passmore, 1992; Robertson, 1984; Wilczynski y Brenowitz, 1988; Whitney y Krebs, 1975), la cual resultaría de la interacción de factores ambientales y sociales. La disponibilidad de sitios de refugio, ventajosos para la oviposición (Stewart, 1983; Backwell y Passmore, 1990b; Emerson y Inger, 1992) o propagación del canto (Wells y Schwartz, 1982), constituyen condiciones ambientales que pueden afectar la disposición espacial de los machos. Entre

los factores sociales, la densidad de los coros influye significativamente en la conducta de espaciamento (Blackwell y Passmore, 1990a; Brenowitz et al, 1984; Dyson y Passmore, 1992). Diversos estudios han demostrado que la intensidad del canto de los vecinos constituye una clave por medio de la cual los individuos regulan su posición en el coro (Brenowitz et al, 1984; Gerhardt et al, 1989; Brenowitz, 1989; Robertson, 1984). La distancia entre los machos es tal que, la vocalización de sus vecinos se mantiene bajo un cierto umbral de intensidad (Brenowitz, 1989; Telford, 1985). La superación de este umbral determina la emisión de cantos agresivos (Rose y Brenowitz, 1991) y eventualmente agresión física (Brenowitz, 1989; Wagner Jr., 1989).

Pleurodema thaul no posee un canto agresivo distinto al de advertencia. Sin embargo, resultados de experimentos de estimulación con cantos homoespecíficos indican que P. thaul modifica la estructura temporal de su canto de advertencia, dependiendo de la intensidad del estímulo (Penna y Solís, 1992). Dada la relación entre la distancia a que se ubica una fuente emisora y la intensidad del sonido, estos resultados sugieren que el canto de advertencia de P. thaul tiene un rol regulador de la disposición espacial que adoptan los machos.

El objetivo de esta parte de la tesis es determinar la

influencia de la intensidad de los cantos y distancias interindividuales en la organización y conducta vocal de los machos de P. thaul, en sus agregaciones reproductivas.

2.- MATERIALES Y METODOS

2.1.- PROCEDIMIENTOS DE TERRENO.

Los animales usados en este estudio fueron muestreados en dos localidades de Chile central: Aguas Buenas (Lat. 34°42' S, Long. 70°53' W) y Pichilemu (Lat. 34°24' S, Long. 72°01' W), durante dos temporadas reproductivas desde Agosto 1992 a Enero 1993 y Agosto 1993 a Enero 1994.

Inmediatamente después de grabar su canto, cada macho fue capturado y se midió la temperatura del agua en la posición en que se encontraba. Además, se determinó el peso (± 0.1 g) y la talla (longitud hocico-urostilo, ± 0.1 mm), removiendo previamente el exceso de agua de la superficie corporal, con papel absorbente. Posteriormente, se amputó el dedo más largo (3°) de la extremidad anterior derecha, a nivel de la tercera falange. Los dedos fueron mantenidos en formalina (10 %) hasta su procesamiento. Para el reconocimiento de los individuos en subsecuentes capturas, se realizaron dibujos del patrón de manchas dorsales y en algunas ocasiones, se marcó el lugar de captura con banderillas recubiertas de pintura fluorescente. Después de estos procedimientos, los animales fueron liberados en su sitio de captura.

2.2.- REGISTRO Y ANALISIS DE LAS VOCALIZACIONES.

El canto de advertencia emitido por los machos fue registrado con una grabadora-cassette estereofónica Marantz PMD-430 y un micrófono direccional AKG CK-9, situado a 50 cm del individuo. Se analizaron los parámetros temporales y la frecuencia dominante de 10 a 20 cantos por animal. En un osciloscopio con memoria (Tektronix 5113) se midió la duración del canto, número de pulsos por canto, frecuencia de pulsos (pulsos/s), número de modulaciones de amplitud por pulso, frecuencia de modulación de amplitud (modulaciones de amplitud/s) y la duración de los pulsos. La frecuencia dominante se determinó en un computador PC 286, provisto con una tarjeta de adquisición de datos (Data Translation 2821). Se registraron y analizaron los cantos de 38 machos.

En esta tesis los componentes del canto son referidos como pulsos en vez de notas, que fue la nomenclatura utilizada en un trabajo previo realizado en esta especie (Penna y Veloso, 1990). Actualmente, pulso es la denominación más comunmente utilizada en los trabajos que describen la vocalización de los anuros.

2.3.- DETERMINACION DE LAS EDADES.

La edad ósea fue determinada mediante el uso de métodos histológicos convencionales de corte y tinción. El

procedimiento descrito por Acker et al (1986), fue modificado de la siguiente forma: las falanges fueron descalcificadas en EDTA durante 48 horas y posteriormente incluídas en parafina. Cortes transversales (7 um de grosor) obtenidos de la porción medial de la diáfisis, fueron teñidos con hematoxilina de Harris y montados en porta-objetos con Permount.

La edad se determinó contando el número de líneas de detención de crecimiento (resting lines) de acuerdo a HemeLaar y Van Gelder (1980). La edad ósea de 60 machos fue estimada independientemente por dos observadores, obteniéndose iguales resultados en la asignación de la edad de 51 individuos (85 %). Las placas correspondientes al 15 % de discrepancia fueron proyectadas en una pantalla de televisión, mediante un sistema de video acoplado a un microscópio, y discutidas hasta alcanzar consenso.

2.4.- ESTIMACION DE LA CONDICION NUTRICIONAL.

La condición nutricional de 38 machos fue estimada utilizando el índice de Quetelet ($\text{peso}/\text{talla}^2$), un indicador comúnmente usado para evaluar el estado nutricional en humanos (e.g. Heymsfield et al, 1994).

2.5.- DETERMINACIONES HORMONALES.

Se capturaron machos a los cuales se había observado su

conducta y registrado su canto. Inmediatamente, se determinó el peso, la talla y se extrajo una muestra de sangre, mediante punción cardíaca con una jeringa de tuberculina heparinizada. Este procedimiento normalmente duró menos de 20 minutos. A continuación, las muestras de sangre (n=34) fueron traspasadas a tubos de microhematocrito, sellados con masilla (CRETOSIL) y mantenidas en posición vertical hasta su centrifugación dentro de las dos horas siguientes. En terreno, el plasma fue mantenido en hielo seco y posteriormente almacenado a -70°C en el laboratorio hasta la determinación de T.

Con el fin de determinar los efectos de la manipulación y mantención en cautiverio en el nivel de testosterona plasmática, un grupo de machos (n=14) fue muestreado a diferentes intervalos de tiempo entre su captura y la toma de muestra de sangre.

La concentración de T plasmática se determinó mediante radioinmunoensayo (RIA), usando una técnica de fase sólida con reactivos disponibles comercialmente (Diagnostic Products Corporation). Debido a que no fue posible obtener la cantidad estándar de plasma requerida por la técnica (50 μl), se realizaron diluciones con la solución blanco. Los valores obtenidos de esta manera cayeron dentro de la curva de calibración realizada con diversas concentraciones estándar de T. Además, duplicados de muestra de un mismo

macho, conteniendo uno de ellos el doble de cantidad de plasma, dieron como resultado concentraciones de T similares.

Con el fin de evitar distorsiones debidas al muestreo, en los análisis sólo se consideraron aquellas muestras de sangre con hematocritos mayores a 14%. Este valor se corresponde con los mínimos descritos previamente para anuros de baja altitud (Ruiz et al, 1987).

2.6.- ESPACIAMIENTO DE LOS MACHOS Y EXPERIMENTOS DE ESTIMULACION.

Antes de comenzar los registros y experimentos de estimulación, en cada coro estudiado (n=5), se determinó en forma aproximada el número de individuos que lo conformaba, se observaron las ubicaciones de éstos y la de sus vecinos más próximos. Sólo se registraron aquellos machos que permanecieron en el mismo lugar de avistamiento durante al menos 10 minutos. Transcurrido este lapso, se grabó y midió la presión de sonido del canto del animal foco (RMS, SPL re 2×10^{-5} Newton/m²) , con un sonómetro Realistic (Fast, C weighting) situado a 50 cm del animal. También se midió la distancia a que se encontraba el vecino más próximo y la presión de sonido de su canto en la posición del animal foco, situando el sonómetro inmediatamente por sobre éste y apuntando hacia su vecino.

Para evaluar el efecto que tiene la intensidad con que son percibidos los cantos de los vecinos en la conducta vocal de los machos, se realizaron experimentos de estimulación con cantos homoespecíficos de intensidad variable. Al variar la intensidad con que es reproducido el estímulo (canto), es posible simular la presencia de un macho (vecino) a diferentes distancias del animal estimulado (foco).

Los experimentos de estimulación se realizaron con aquellos machos que se encontraban más alejados del núcleo del coro. Con el fin de adecuar los parámetros del estímulo a la temperatura en que se realizaban los experimentos, se utilizó como estímulo un canto del mismo sujeto experimental (animal foco). Este canto fue elegido al azar y grabado inmediatamente antes del inicio de los experimentos en una cinta sin fin, de 30 segundos de duración. El estímulo fue reproducido mediante un toca-cassette SONY TCD-5M, un amplificador Alpine 3540 y un parlante que se ubicó frente al animal (100-275 cm). Atenuadores dispuestos en serie con el amplificador, permitieron controlar la intensidad de los estímulos en pasos decrecientes de 6 dB. Se realizaron cinco estimulaciones para cada intensidad, midiendo cada vez la presión de sonido (a 50 cm) de la respuesta del animal. Finalizada la sesión, se determinó la presión de sonido del

estímulo en la posición del animal estimulado, reproduciéndolo a las diferentes intensidades ensayadas.

Para la determinación de promedios de intensidad, los valores de presión de sonido fueron convertidos a medidas lineales de presión absoluta ($0 \text{ dB SPL} = 2 \times 10^{-5} \text{ Newton/m}^2$), promediados y luego reconvertidos a presión de sonido (SPL re $2 \times 10^{-5} \text{ Newton/m}^2$).

3.-RESULTADOS

3.1.- VARIACION DE TEMPERATURA.

En ambas localidades se observó un incremento sostenido de las temperaturas hacia el mes de enero y un decremento en la diferencia entre la temperatura del agua y el aire (Fig. 2). Sin embargo, la temperatura del agua en Pichilemu fue 4-5 grados superior a la registrada en Aguas Buenas. Esta diferencia puede deberse a la ubicación geográfica de ambos lugares y las características de ambos sitios de registro. En Pichilemu se trabajó en los márgenes de una extensa laguna (Bajel) con abundante vegetación acuática y drenaje natural. Los sitios de trabajo en Aguas Buenas fueron, con excepción del tranque Los Alcones (30 x 30 m aprox.), pozas (20 x 12 m aprox.) situadas en el curso de un arroyo con flujo constante de agua.

3.2.- OBSERVACIONES CONDUCTUALES.

El número de machos que conformaban los 5 coros estudiados flutúo entre 3 y > 50. Los coros de mayor densidad correspondieron a un tranque artificial (Los Alcones, > 50 individuos) y a un coro observado al inicio de la temporada reproductiva de 1992 (Agua Buena, 9-15 individuos). El resto de las agregaciones comprendió entre tres y seis machos.

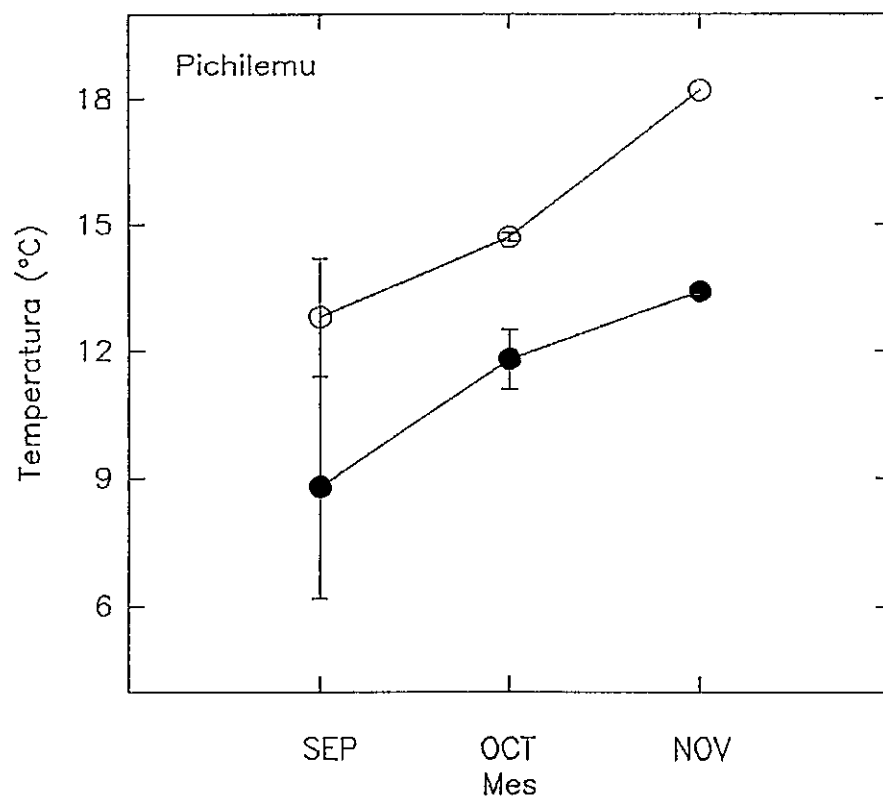
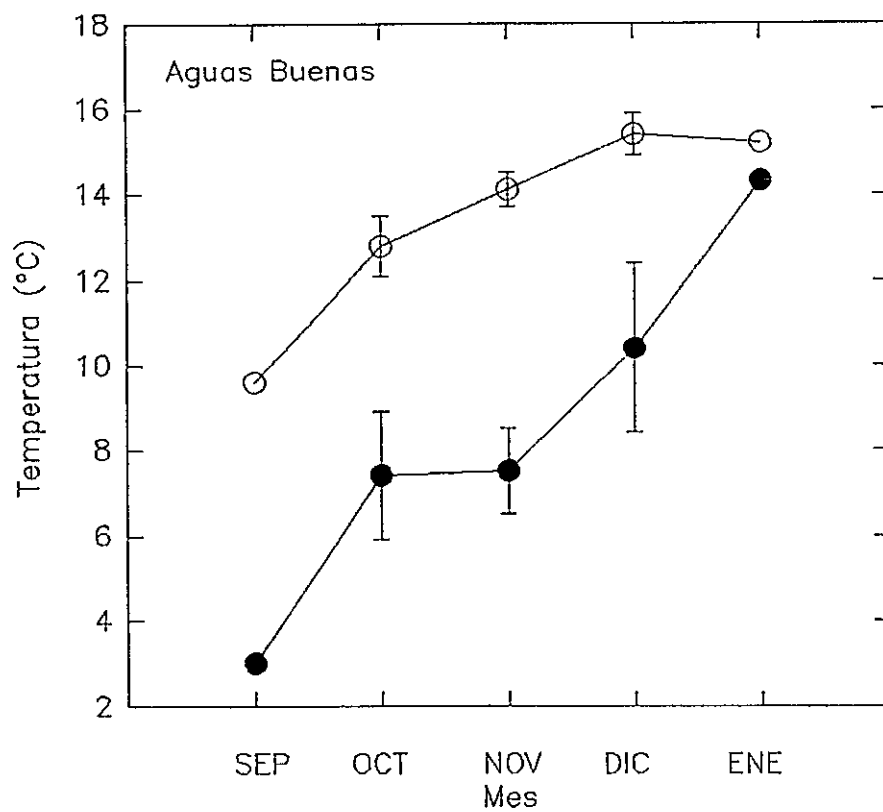


Fig. 2. Variación de la temperatura en los sitios de estudio. (○ Agua ● Aire)

La actividad observada en los coros fue de tipo crepuscular. Esta se iniciaba coincidentemente con la disminución de luminosidad (< 1 lux) y cesaba al alba. Los machos comenzaban a vocalizar en forma sincrónica e intermitente, con pausas de duración variable, determinando en conjunto lo que se denominó "oleada de canto". Frecuentemente, el número de sapos que participaba en el coro y la frecuencia de las oleadas de canto, fue mayor durante la primera mitad del período de actividad. La mayor parte de los registros y observaciones se realizaron entre las 2100 y 0300 horas.

En los coros con mayor número de individuos, los machos presentaban una gran movilidad. Fue frecuente observar que machos vocalizando a distancias interindividuales inferiores a 50 cm por algunos minutos, cambiaron luego de posición. En los coros menos densos, los machos mantuvieron las posiciones desde donde vocalizaban, en sucesivos períodos de observación. Más aún, mediante la identificación de algunos animales y sus respectivas posiciones, se pudo determinar una gran fidelidad por el lugar de canto. Varios machos (6/10) fueron observados a distancias inferiores a un metro del lugar de su primer avistamiento, luego de dos semanas.

Un total de 11 hembras fueron capturadas durante las dos temporadas reproductivas, cinco de las cuales estaban en

amplexo. El número total de machos capturados en el mismo período fue 71. Estos valores indican una razón operacional de sexos (ROS) fuertemente sesgada hacia los machos. La talla de los machos en amplexo sexual, no fue diferente de la de los machos no apareados (ANOVA de una vía, $t_{40} = 1.474$, $p > 0.05$) y no se encontró una correlación significativa entre las tallas de los machos y hembras en amplexo ($r = 0.24$, $p > 0.05$).

3.3.- RELACIONES ENTRE LOS PARAMETROS DEL CANTO Y LA TEMPERATURA.

Los promedios y rangos, resultantes del análisis de los parámetros del canto de advertencia, concuerdan con los valores reportados por Penna y Veloso (1990), (Tabla 2). Todos los parámetros temporales mostraron una significativa variación con la temperatura. Sin embargo, el efecto de la temperatura en la duración del canto es menor que en las demás características temporales; sólo un 9.9 % de la variabilidad de éste parámetro es explicada por esta variable ambiental (Tabla 2). La frecuencia dominante varió independientemente de la temperatura en el rango estudiado (8.8-24.5 °C).

Con el fin de excluir la influencia de la temperatura, los parámetros temporales fueron ajustados a 15 °C, de acuerdo a los valores predichos por las ecuaciones de

Tabla 2. Promedios, rangos y regresiones lineales de los parámetros del canto con la temperatura del agua. (n=45 para todas las variables; rango de temperaturas: 8,8 - 24,5 °C)

Variable	Promedio (rango)	Ecuación	r	r ²
Duración del canto (s)	4,5 (1,9 - 9,9)	$y = 2,26 + 0,15x$	0,31 *	0,099
Número de pulsos	46,6 (16,4 - 95,8)	$y = - 7,30 + 3,63x$	0,59 **	0,358
Frecuencia de pulsos (pulsos/s)	10,2 (6,2 - 15,3)	$y = 3,15 + 0,47x$	0,80 **	0,650
Número de modulaciones de amplitud (m.a.)	5,7 (4,5 - 6,7)	$y = 4,32 + 0,09x$	0,49 **	0,244
Duración de los pulsos (ms)	51,9 (35,0 - 78,8)	$y = 82,32 - 2,04x$	- 0,73 **	0,533
Frecuencia de modulaciones de amplitud (m.a./ms)	0,11 (0,07 - 0,19)	$y = 0,017 + 0,006x$	0,95 **	0,904
Frecuencia dominante (Hz)	2160 (1914 - 2441)	$y = 2090 + 4,71x$	0,13	0,019

* $p < 0,05$ ** $p < 0,001$

regresión correspondiente. Este fue el valor promedio aproximado de temperatura del agua, a la cual *P. thau* fue observado cantando.

3.4.- CRONOLOGIA OSEA.

Las frecuencias y rangos de número de líneas de detención de crecimiento (LDC) fueron similares entre las muestras de 1992 y 1993 ($t_{58}=0,4$ $p > 0.05$), y por lo tanto, los datos se consideraron agrupados en los análisis posteriores.

El número de LDC que presentaban los machos fluctuó entre dos y siete ($\bar{x} = 4.06$; Fig. 3), encontrándose las mayores frecuencias en las clases correspondientes a tres y cuatro LDC (Fig. 4). Un análisis de regresión lineal reveló una baja, pero significativa relación entre la talla y la edad ósea ($r_s = 0.340$, $p < 0.05$, $n = 60$; Fig. 5). Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre las tallas de las diferentes clases de edad (ANOVA de una vía, $F_{5,54} = 1.75$, $p = 0.137$).

3.5.- RELACIONES ENTRE EDAD, TALLA, CONDICION NUTRICIONAL Y CARACTERISTICAS DEL CANTO.

En la tabla 3 se presentan las correlaciones entre los atributos de los machos (talla, peso, edad y condición nutricional) y los parámetros del canto. Sólo se

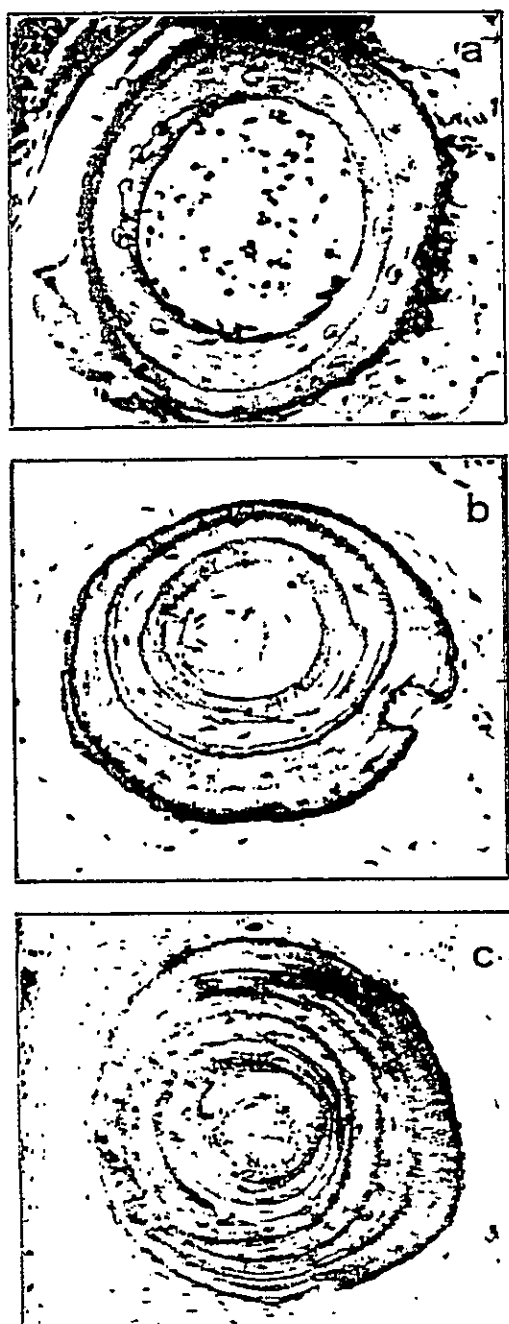


Fig. 3. Cortes transversales a través de la diáfisis de falanges de machos de *Pleurodema thaul*. (a), (b), (c): individuos de 2, 4 y 7 años, respectivamente. (x 300).

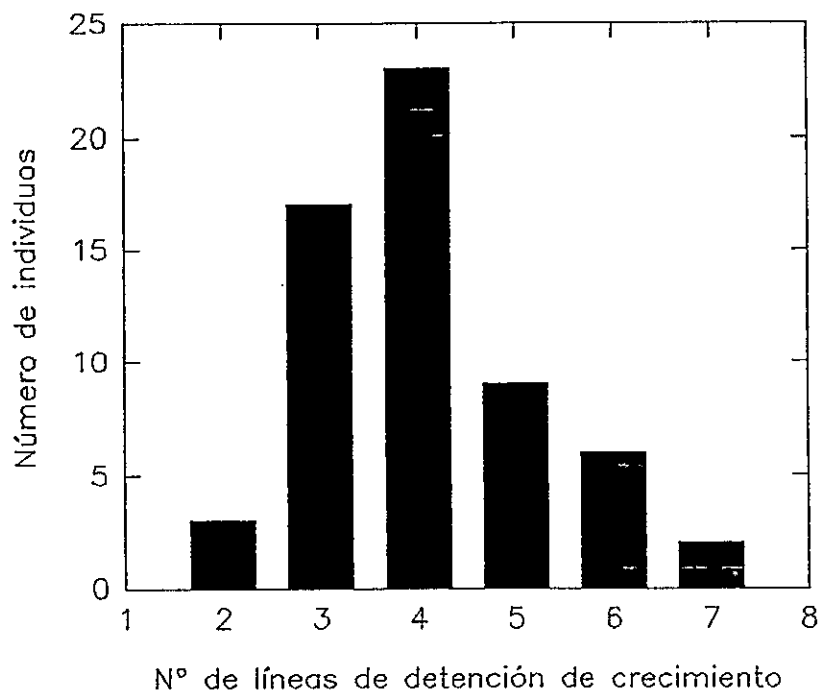


Fig. 4. Distribución de frecuencia de edades basado en el análisis de la edad ósea (n=60)

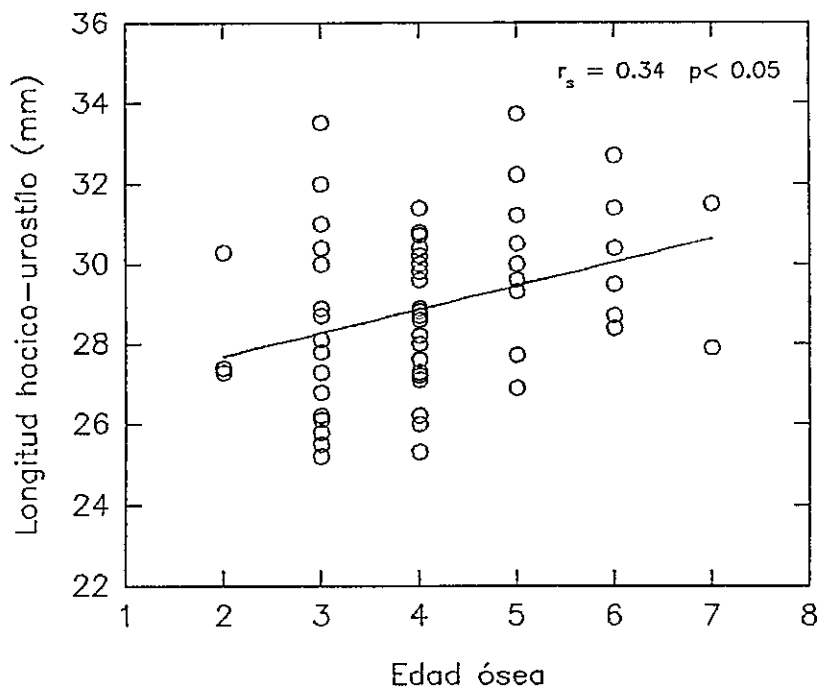


Fig. 5. Relación entre la talla y el número de líneas de detención de crecimiento.

Tabla 3. Coeficiente de correlación entre atributos de los machos y parámetros del canto.
Los parámetros temporales fueron ajustados a 15 °C (n= 38; * p<0,05).

	Frecuencia dominante	Duración del canto	Número de pulsos	Frecuencia de pulsos	Duración de pulsos	Número de modulaciones amplitud	Frecuencia de modulaciones de amplitud
Edad	- 0,226	0,075	- 0,041	- 0,234	0,161	0,066	- 0,278
Talla	-0,322 *	0,027	- 0,033	0,029	0,061	0,106	- 0,175
Peso	- 0,148	0,236	0,172	0,050	- 0,050	0,129	- 0,004
Indice Quetelet	0,132	0,344 *	0,315	0,097	- 0,164	0,097	0,131

encontraron correlaciones estadísticamente significativas entre la frecuencia dominante y la talla (Fig. 6) y entre la duración del canto y la condición nutricional de los animales (Fig. 7). Análisis de regresión múltiple (stepwise) realizados con cada parámetro del canto como variable dependiente y los atributos de los machos como variables independientes, confirmó que sólo la variabilidad de la frecuencia dominante y de la duración del canto son explicadas por modelos de una variable basados en la talla ($r^2 = 0.103$, $p < 0.05$) y la condición nutricional ($r^2 = 0.118$, $p < 0.05$), respectivamente.

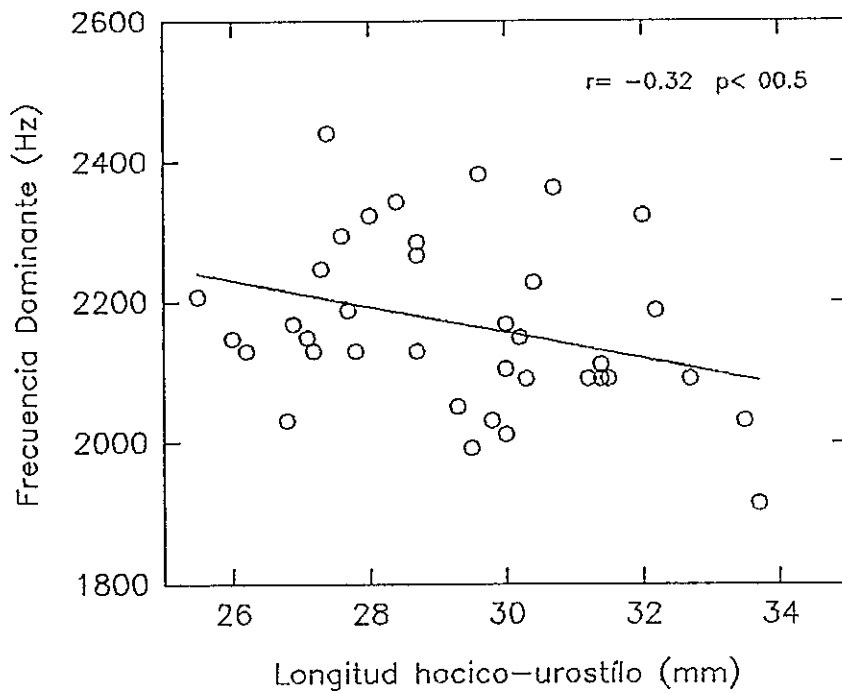


Fig. 6. Relación entre la frecuencia dominante y la talla.

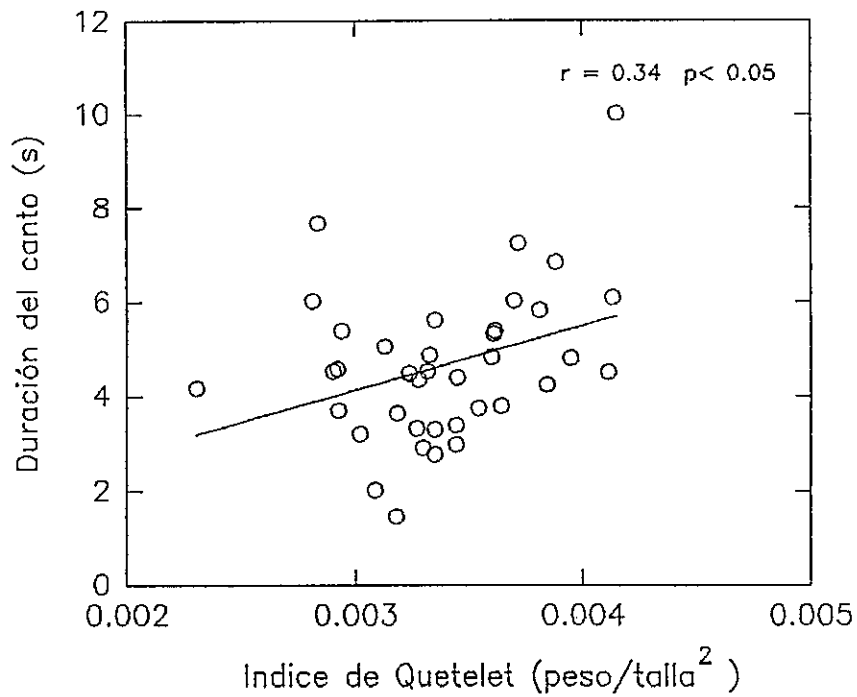


Fig. 7. Relación entre la duración del canto y la condición nutricional.

3.6.- VARIACION ESTACIONAL DE LA TESTOSTERONA.

No se observaron diferencias significativas entre los niveles de T registrados en ambos sitios de muestreo (ANOVA de una vía, $t_{32} = 0.674$, $p > 0.05$) ni entre periodos de muestreo para cada uno de los sitios (ANOVA de una vía, $F_{5,28} = 0.942$, $p > 0.05$). No obstante, la variación de estos niveles en Aguas Buenas, en donde se realizó un muestreo más completo y regular, sugiere un patrón estacional, con un aumento progresivo a partir de agosto hasta alcanzar máximos valores entre los meses de octubre y diciembre, declinando hacia fines del mes de enero (Fig. 8)

Dado que no se encontraron efectos de la localidad ni de la época en que se realizó el muestreo en los niveles de T registrados, en los análisis que siguen estos valores se consideran como una única muestra.

3.7.- EFECTO DE MANIPULACION EN LOS NIVELES DE T.

La figura 9 muestra el efecto del tiempo transcurrido entre la captura del animal y la extracción de sangre. Se apreció una drástica disminución de la [T] durante las primeras horas, probablemente debida al estrés que sufren los animales por la manipulación y extracción de su medio. Luego de transcurridas aproximadamente 10 horas, se obtuvieron los valores mínimos de T. El decaimiento en nivel de T se ajusta a un modelo de regresión exponencial

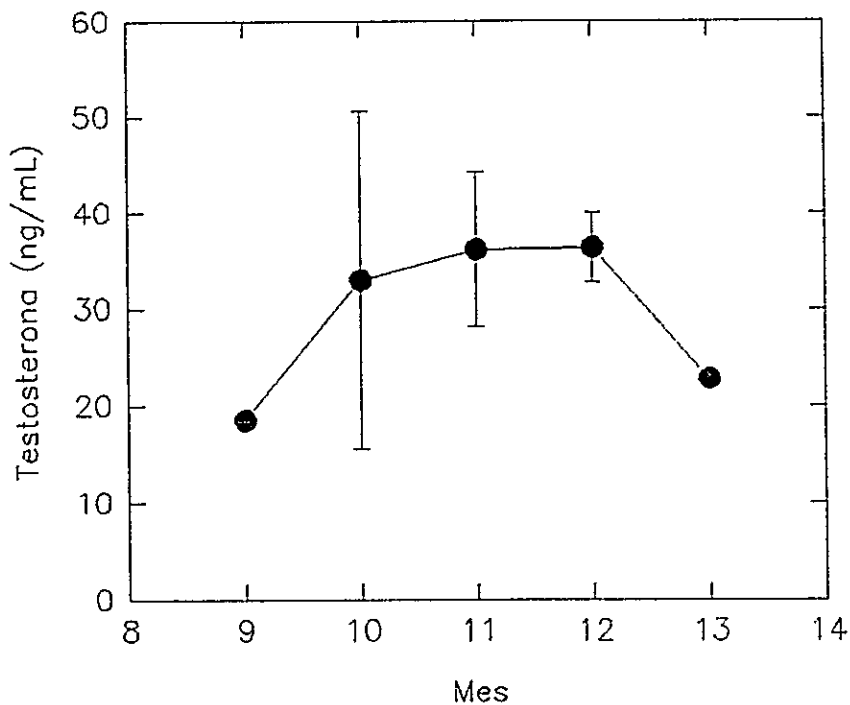


Fig. 8. Variación de los niveles de T en la temporada reproductiva 1993 en Aguas Buenas.

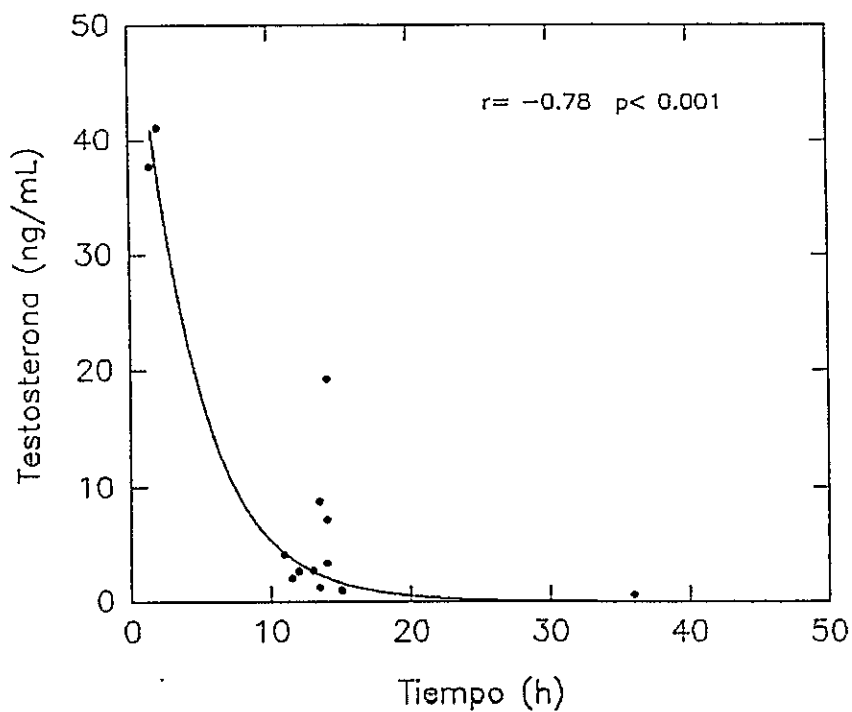


Fig. 9. Efecto de la manipulación y mantención en cautiverio en la concentración de T plasmática

($r = -0.78$, $p < 0.001$) con intercepto en 87.9 ng/mL. Este valor es concordante con el máximo valor observado en los animales muestreados durante 1993 (76.79 ng/mL), si se considera el lapso que tomó el procedimiento de extracción de sangre.

3.8.- RELACIONES ENTRE TESTOSTERONA, CONDUCTA VOCAL, CARACTERISTICAS FISICAS Y CIRCUNSTANCIA SOCIAL.

Un análisis de correlación múltiple que consideró: características físicas (peso, talla, condición nutricional), parámetros temporales y espectrales del canto y la temperatura, reveló la existencia de relaciones estadísticamente significativas entre la [T] plasmática y el número de pulsos del canto ($r = 0.36$, $p = 0.037$, $n = 34$; Fig. 10) y la temperatura del agua en el sitio en que el animal fue registrado ($r = 0.34$, $p = 0.049$, $n = 34$; Fig. 11). La pendiente de la curva de regresión indica que el efecto de la temperatura en la [T] es moderado, alcanzando a 2.1 ng/mL por grado Celcius. Luego de ajustar los valores de [T] a 15 °C, utilizando ese valor, la significancia de la regresión entre [T] y número de pulsos ($r = 0.324$, $p = 0.061$) disminuye de 96 a 94%.

Aún cuando la correlación entre la [T] y la edad no alcanza significancia estadística ($r_s = -0.319$, $p = 0.10$, $n = 26$), se observa una disminución en los niveles de T

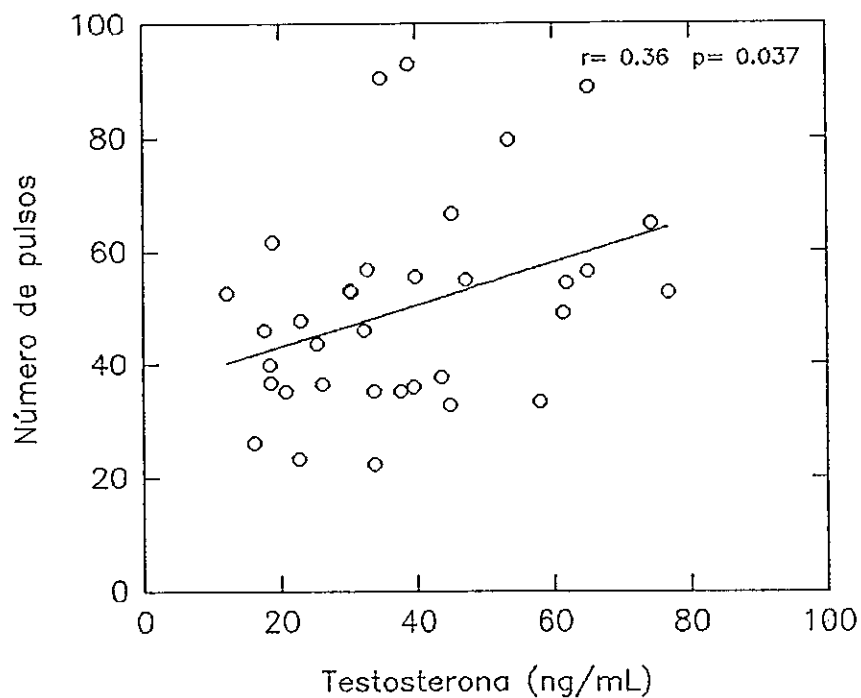


Fig. 10. Relación entre el nivel de T y el número de pulsos del canto.

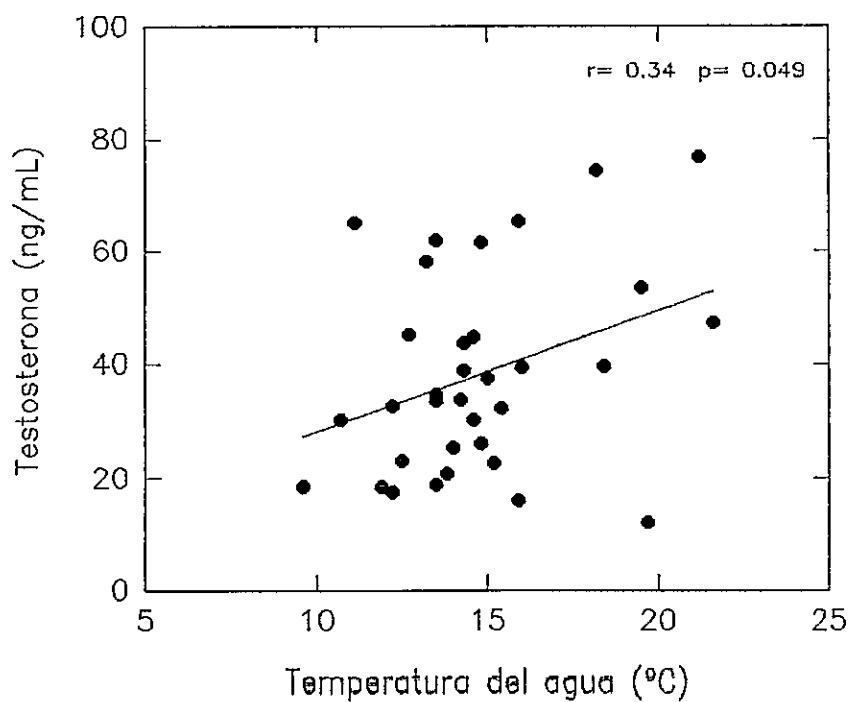


Fig. 11. Relación entre el nivel de T y la temperatura del sitio en que se encontraban los machos.

conforme aumenta la edad de los machos (Fig. 12).

Se realizó una comparación de los niveles de T de individuos que se encontraban vocalizando aislados y aquellos que cantaban agrupados conformando coros. Se distinguieron dos circunstancias sociales: machos que se encontraban formando parte de coros e interactuaban vocalmente (rango de distancia interindividual: 1-7 m; n = 29) y aquellos que se encontraban relativamente aislados, a distancias superiores a 20 m de sus vecinos más próximos (n = 4). En esta última circunstancia, se consideró como criterio de distinción que la presión de sonido del canto del vecino más próximo, en la posición del animal estudiado, fuera menor a 50 dB SPL. El resultado de este análisis indicó que los machos que cantan aisladamente presentan concentraciones plasmáticas de T significativamente menores que aquellos machos que interactúan activamente ($t_{32} = 2.038$, $p < 0.05$; Fig 13). Al considerar el efecto de la temperatura en el nivel de T, la significancia de esta diferencia disminuye de 96 a 94%.

Los machos aislados fueron muestreados en un período en que P. thaul presentaba una sostenida actividad reproductiva (27/09, 8-12/10 y 08/01) y la diferencia entre sus valores máximo y mínimo fue de 12 ng/mL. Esto sugiere la ausencia de un efecto estacional, en el resultado de la comparación entre ambas condiciones sociales.

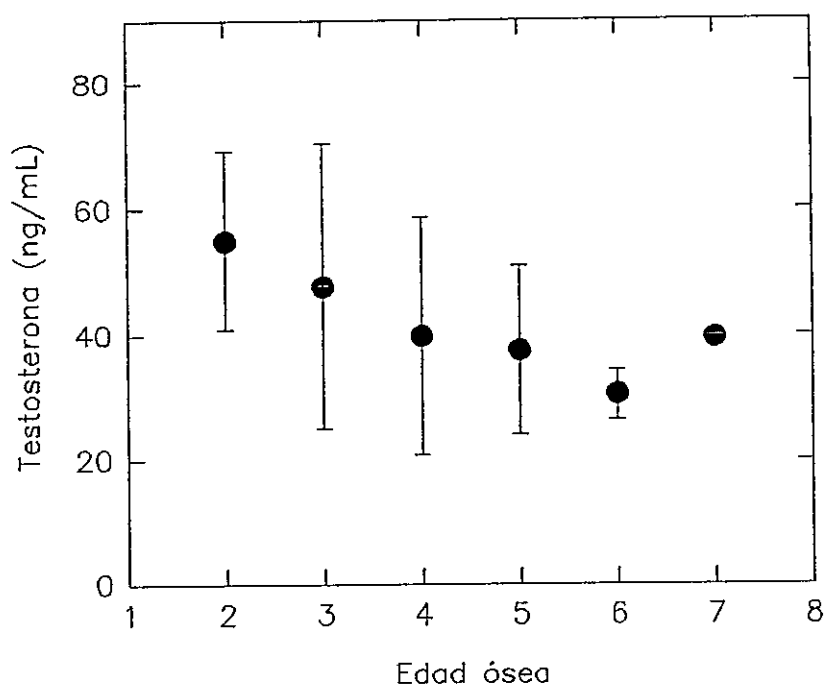


Fig. 12. Variación de los niveles de T con la edad de los machos.

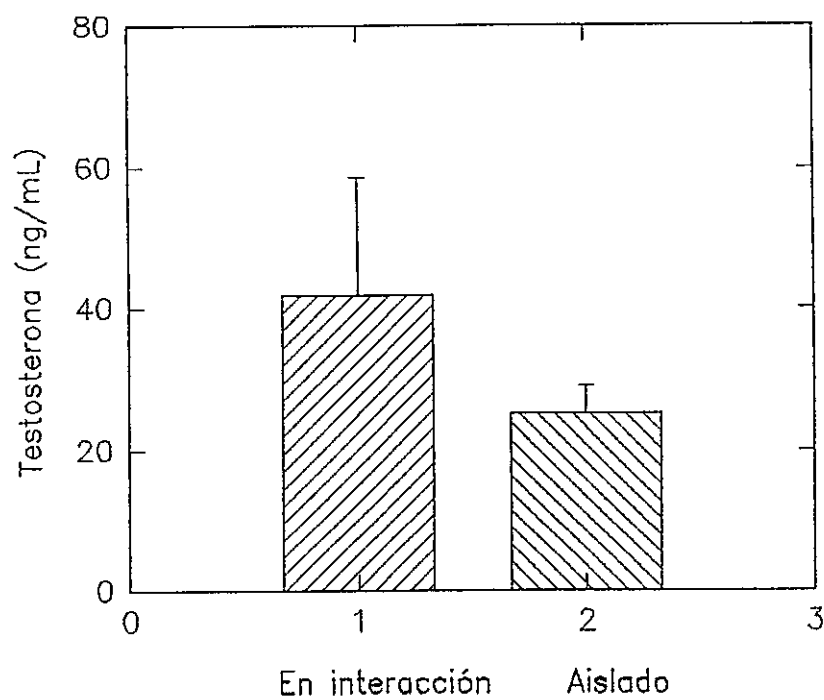


Fig. 13. Efecto de interacciones sociales en los niveles de T. La diferencia entre ambas condiciones es significativa ($p < 0.05$)

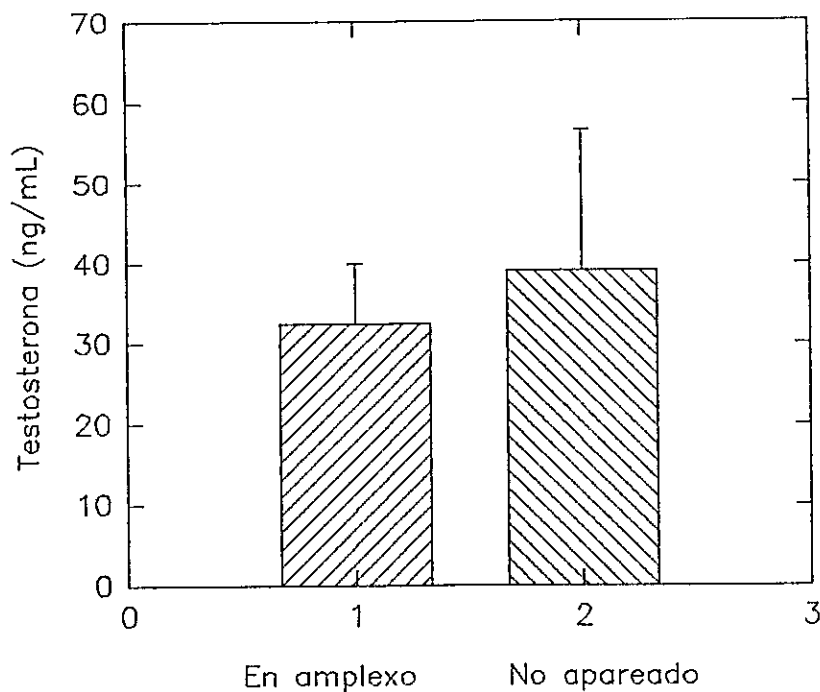


Fig. 14. Niveles de T de los machos según circunstancia sexual
Los valores no difieren significativamente ($p > 0.05$).

Una prueba de t realizada con tres machos capturados en amplexo durante 1993 y aquellos que se encontraban vocalizando ($n = 37$), no reveló diferencias significativas en sus concentraciones plasmáticas de T ($t_{38} = 0.633$, $p > 0.05$; Fig. 14).

3.9.- ESPACIAMIENTO E INTENSIDAD DE LAS VOCALIZACIONES.

En la tabla 4 se presentan valores promedios y rangos de las variables medidas en individuos que se encontraban en actividad vocal.

Tabla 4. Promedios y rangos de presiones de sonido del canto de advertencia y distancias interindividuales, medidas en distintas condiciones sociales naturales.

Presión de Sonido del Canto				
	De machos en interacción (dB SPL medido a 50 cm del animal foco)	Del vecino más próximo (dB SPL medido en posición de animal foco)	De machos aislados (dB SPL medido a 50 cm del animal foco)	Distancia entre animal foco y vecino más próximo (cm)
Promedio	86.3	73.3	82.6	312
D. Estándar	2.8	5.6	5.0	164.7
Coef. Variación (%)	3.2	7.6	6.0	52.7
Rango	79.0-90.5	58.0-82.0	77.3-88.0	98.0-784
n	27	19	6	19

Al comparar las presiones de sonido de los cantos de los machos, de acuerdo a la situación social (aislado o en interacción; ver criterio en 3.8) en que se encontraban, se observó que los machos que interactúan activamente en los coros emiten sus cantos (medidos a 50 cm) con intensidades significativamente mayores (3-4 dB SPL) que aquellos que vocalizan aislados ($t_{31} = 2.487$, $p < 0.05$; fig 15).

Para 19 individuos, las distancias a que se encontraban sus vecinos más próximos variaron entre 98 y 784 cm. La intensidad del canto de los vecinos, medida en la posición en que se encontraban los machos analizados, los cuales interactuaban y permanecían temporalmente estables en sus lugares, fluctuó entre 58 y 82 dB SPL (Fig. 16). No se

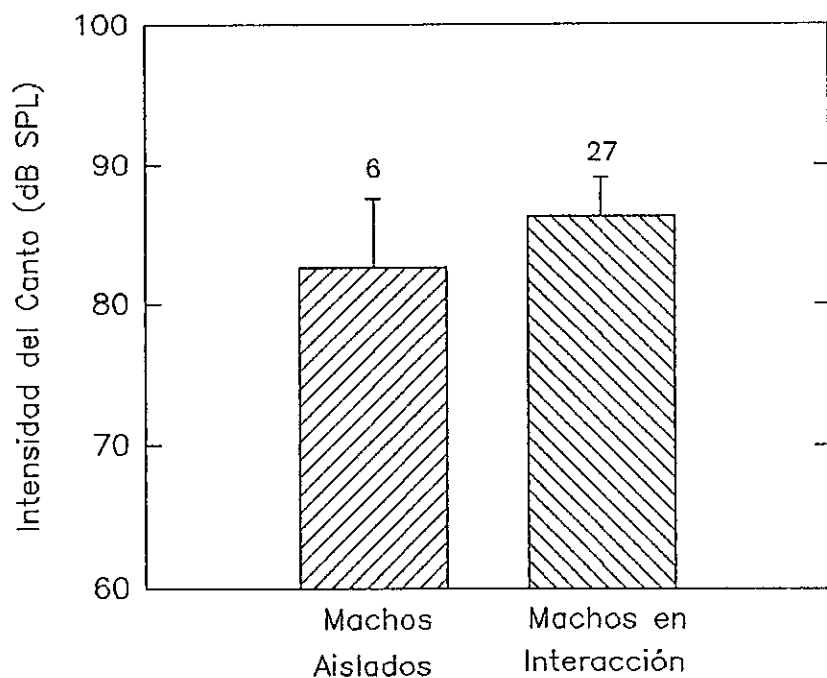


Fig. 15. Presiones de sonido del canto emitido por machos en diferentes circunstancias sociales. Las diferencias en SPL son significativas ($p < 0.05$).

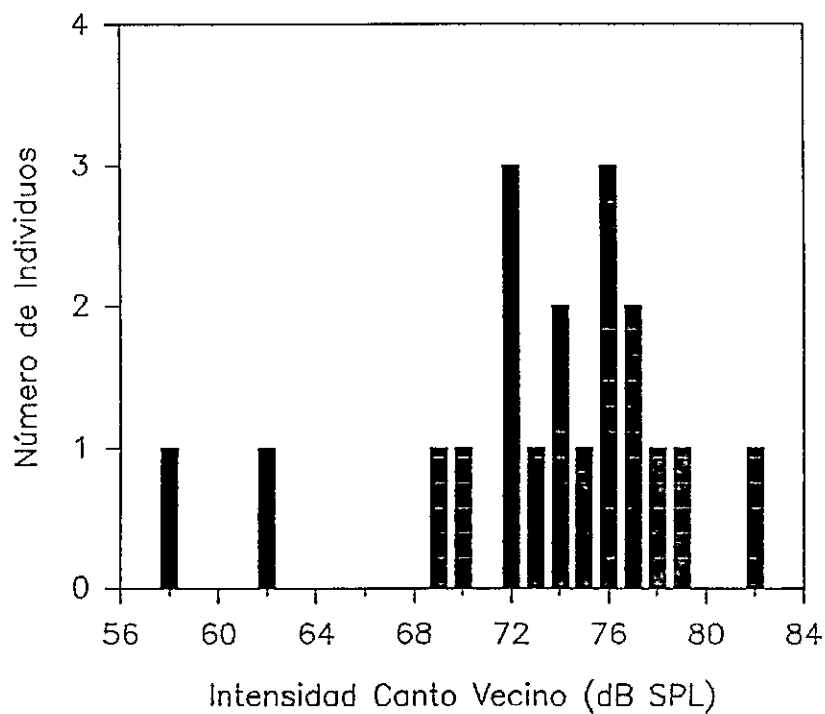


Fig. 16. Frecuencia de intensidades del canto de vecinos más próximos en machos que conformaban parte de un coro.

encontró relación entre la intensidad del canto de los machos residentes (79-90 dB SPL) y la de sus vecinos ($r=0.158$, $p>0.05$), ni con la distancia a la cual se ubicaban éstos ($r=0.071$, $p>0.05$).

La tabla 5 muestra la respuesta vocal de 5 machos estimulados con intensidades variables. La diferencia entre la mayor y menor intensidad de estimulación fluctuó entre 29 y 15 dB SPL, en la posición de los sujetos experimentales. La diferencia entre la intensidad de las respuestas de los machos, a la mayor y menor intensidad de estimulación fluctuó entre 0.5 y 4.5 dB SPL.

La respuesta de la mayoría de los machos varió cuando la intensidad de estimulación fue igual o superior a 84 dB SPL. Los machos NC y 4794, cesaron de responder cuando la presión de sonido del estímulo fue 84 y 87 dB SPL, respectivamente (Fig. 17b y c). Otro macho (2993) estimulado con presiones de sonido de 88 y 93 dB SPL, aumentó la intensidad de su canto, pero disminuyó el número de repuestas a cuatro y una, respectivamente (Fig. 17d). Luego de la respuesta única dada a la mayor intensidad de estimulación, el animal cambió de posición. El macho 4794-RC, fue el único que no varió la intensidad de sus respuestas al ser estimulado con intensidad máxima, que en este caso fue de 90.5 dB SPL (Fig. 17e). Los machos que dejaron de cantar, permanecieron silentes en el mismo sitio

Tabla 5. Experimentos de Estimulación. Intensidad de los estímulos (Ie) y de las respuestas (Ir) de los machos.

Ie en la posición del macho estimulado (dB SPL)	Ir macho NC (dB SPL)	Ir macho 2993 (dB SPL)	Ir macho 4794 (dB SPL)	Ir macho 4794 (recapturado) (dB SPL)	Ir macho 2193 (dB SPL)
93.0		92.0			
90.5				82.0	
88.0		89.8			
87.0			0		
84.0	0				
83.0				82.2	
81.5					81.5
80.5		88.2			
79.7			78.0		
78.2	69.3				
76.5					79.0
76.0		88.5			
74.0				83.0	
73.5			76.6		
71.0	69.0				
70.5					77.0
68.7				82.0	
68.5			78.1		
66.5					77.0
66.0	68.0				
63.0			77.6		
62.0				81.5	
58.5	67.5				
58.0			77.3		
55.0	68.0				

y reanudaron su vocalización después de transcurrido un tiempo (>5 min) desde el término de la estimulación ó abandonaron el lugar en que se encontraban.

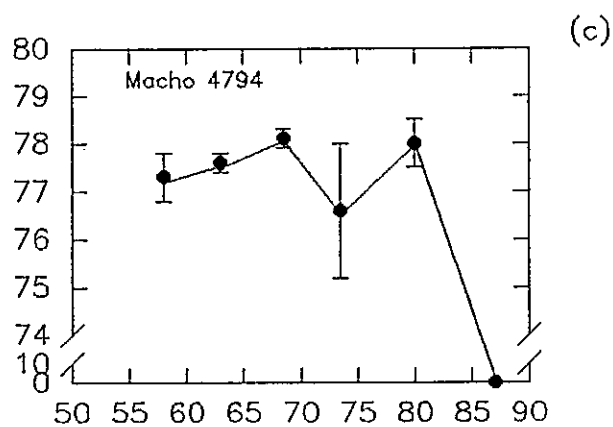
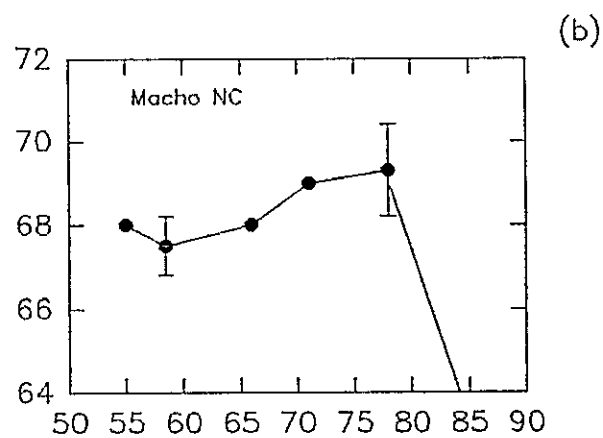
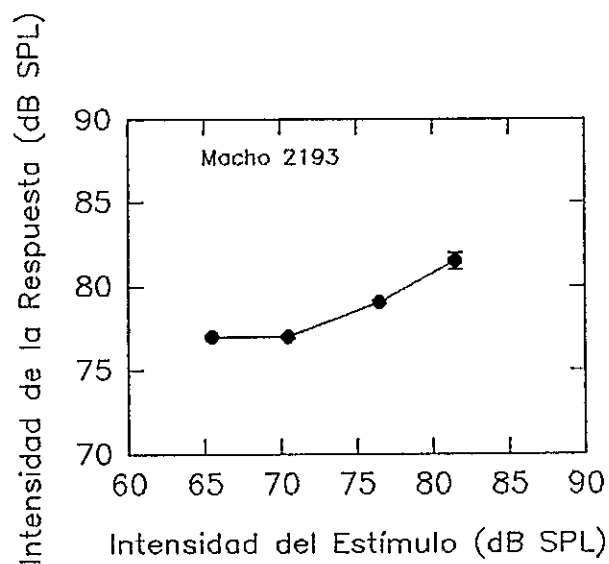
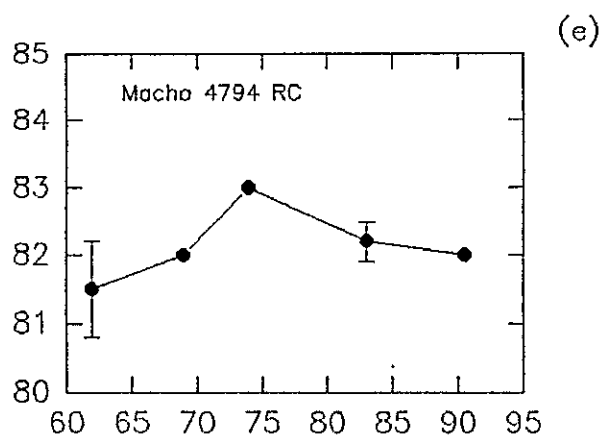
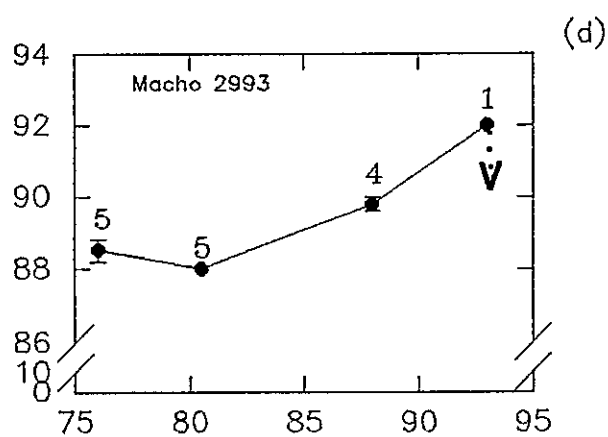


Fig. 17. Experimentos de estimulación. Respuestas de los machos a intensidades variables de estimulación.



4.- DISCUSION

4.1.- ESTRUCTURA ETARIA DE LOS COROS DE P. thaul

La estructura etaria de los machos de P. thaul en Chile central es similar a la reportada en otras poblaciones naturales de sapos y ranas, en las cuales la mayoría de los individuos se ubican en las categorías de tres y cuatro años (Gittings et al, 1982; Lykens y Forester, 1987; Kalb y Zug, 1990; Acker et al, 1986).

En P. thaul, la relación entre talla y edad es significativa, aunque débil ($r= 0.327$) comparada con la que presenta Hyla crucifer ($r= 0.71$, Lykens and Forester, 1987). En este hílido existe una diferencia significativa en la talla de los individuos de dos y tres años, pero el crecimiento es muy limitado en los años siguientes. En otros anuros, cuya edad ósea ha sido determinada, no se han encontrado correlaciones significativas entre talla y edad (Kalb y Zug, 1990; Gittins et al, 1982; Reading, 1991). La baja correlación o ausencia de ella, entre la longitud corporal y la edad es una tendencia general en anfibios (Halliday y Verrel, 1988) y refleja la baja tasa con que ocurre el crecimiento después de alcanzar la madurez sexual.

El mínimo de dos LDC hallado entre los machos que se

encontraban cantando, indicaría que éstos inician su actividad vocal durante el segundo año de vida. Esto concuerda con la edad en que inician la actividad reproductiva otras especies: Hyla (Lykens y Forester, 1987), Bufo (Gittins et al, 1982) y Rana (Gibbons y McCarthy, 1984).

4.2.- EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA ESTRUCTURA DEL CANTO

Como en otros anuros (e.g. Sullivan, 1982; Sullivan y Malmos, 1994; Zweifel, 1968), la frecuencia dominante del canto de advertencia de P. thaul no depende de la temperatura. La significativa correlación entre la talla y la frecuencia dominante y la ausencia de tal relación entre la edad y la frecuencia dominante del canto de este anuro, concuerda con la situación reportada en Hyla crucifer por Lykens y Forester (1987).

La dependencia de la temperatura de los parámetros temporales observada en P. thaul, es de común ocurrencia en varias especies de anuros (e.g. Gayou, 1984; Wagner, 1989a; Zweifel, 1968). En algunas especies de Bufo, que como P. thaul, producen prolongadas vocalizaciones compuestas por numerosos pulsos, la duración del canto experimenta un moderado cambio con la temperatura, en comparación con otros componentes temporales (Sullivan y Wagner, 1988; Sullivan, 1992; Zweifel, 1968). Más aún, en Bufo woodhousei

australis la duración del canto no es afectada por la temperatura (Sullivan, 1982).

Sorprendentemente, en P. thaul la duración del canto está positivamente correlacionada con la temperatura, contrastando con la correlación negativa que existe en especies de Bufo, que emiten cantos prolongados (Zweifel, 1968; Sullivan y Wagner, 1988; Sullivan, 1992). Esta dependencia positiva de la duración del canto con la temperatura está determinada por la gran magnitud de la pendiente (+3.63) de la curva de regresión entre el número de pulsos y esta variable, lo cual compensa el efecto negativo en la duración del canto de un incremento en la frecuencia de pulsos y acortamiento de la duración de los pulsos con la temperatura (Tabla 2).

Es improbable que la relación observada entre la temperatura y la duración del canto sea debida a una falla metodológica durante la medición de esta variable, ya que P. thaul vocaliza mientras flota en el agua, un elemento térmicamente estable relativo al aire. Además, la validéz de las mediciones de la temperatura del sustrato ha sido estimada por Sullivan y Hinshaw (1990), quienes encontraron una más alta correlación entre los parámetros temporales y la temperatura en la posición del animal que con la temperatura corporal.

4.3.- INFLUENCIA DE LA CONDICION NUTRICIONAL EN LOS COMPONENTES TEMPORALES DEL CANTO.

La vocalización tiene un alto costo energético en diferentes anuros (e.g. Wells y Taigen, 1986; Bucher et al, 1982), pudiendo determinar incrementos en la tasa metabólica de 400 a 2400% y de 24 a 55% por sobre los niveles de reposo y ejercicio forzado, respectivamente (Bennett, 1986; Wells y Taigen, 1992). Este es un proceso muy ineficiente, que alcanza a lo más a un 1,2 % de eficiencia en el leptodactílido Physalaemus pustulosus (Ryan, 1985). En Rana virgatipes, los machos pierden peso corporal y masa lipídica durante la actividad reproductiva y su tasa de crecimiento está inversamente relacionada con el esfuerzo de canto (Given, 1988). En Bufo rangeri, la tasa de canto está relacionada con una pérdida de peso diaria promedio (Cherry, 1993). No se han realizado mediciones metabólicas durante la actividad vocal en anuros que producen cantos prolongados como los de P. thaul, pero la demanda energética es concebiblemente alta en estos anuros, si se considera que el metabolismo (V_{O_2}) es proporcional a la extensión del canto (Taigen y Wells, 1985).

El alto gasto energético de P. thaul en la actividad vocal es consistente con la condición de reproductor prolongado de este anuro. Los machos de especies con este

modo de reproducción invierten más energía en cantar, que en la búsqueda de hembras (Wells, 1977). Concordantemente, los machos de P. thaul presentan una notable fidelidad por sus sitios de canto, ubicándose en el mismo lugar durante varias noches consecutivas. Más aún, en las agregaciones corales estudiadas, los machos se encontraban ampliamente espaciados y sus interacciones eran mediadas por vocalizaciones, no observándose disputas físicas.

En P. thaul, la magnitud de la variación interindividual de los componentes del canto es diferente. Los coeficientes de variación para la frecuencia dominante y la duración del canto (compensada por temperatura) son 5.6 % y 34.8 %, respectivamente. Estos valores caen dentro de los rangos de propiedades estáticas y dinámicas de los cantos, sensu Gerhardt (1991), respectivamente. La talla y la condición nutricional muestran una variación concordante con las diferencias observadas entre ambos parámetros del canto (7.2 % y 12.0 %, respectivamente), lo cual enfatiza la relevancia de los atributos físicos de los machos en la estructura de las vocalizaciones. La restringida variación de la talla, resulta del lento crecimiento que experimentan los machos sexualmente maduros (ver 4.1), en tanto que, la mayor variación en la condición nutricional, probablemente está relacionada con la pérdida de peso durante la actividad reproductiva, como ha sido observado en otras

especies (Given, 1988; Tejedo, 1992).

4.4.- INFLUENCIA DE LOS NIVELES DE TESTOSTERONA EN LA CONDUCTA VOCAL DE *P. thaul*.

En forma similar a lo descrito en otras especies de anuros con reproducción prolongada (Licht et al, 1983; Mendonca et al, 1985; Zerani et al, 1991), *P. thaul* presenta tendencia a una variación estacional en sus niveles de testosterona, aún cuando ésta no es significativa. El incremento de este esteroide coincide con el establecimiento e inicio de la actividad vocal de los coros. Sin embargo, existe una gran variabilidad interindividual en la concentración plasmática de T y en la conducta vocal de este anuro.

La relación encontrada entre el nivel de T y el número de pulsos del canto de advertencia de los machos de *P. thaul*, constituye una primera evidencia de la influencia de este andrógeno en la estructura de la vocalización de los machos, en condiciones naturales. Experiencias previas, realizadas en condiciones de laboratorio y utilizando implantes de este andrógeno y/o castración, han determinado también un efecto de este andrógeno en la estructura temporal del canto. Machos castrados de *Xenopus laevis*, presentan actividad vocal (tiempo total de canto) proporcional a la dosis de T aplicada (Wetzel y Kelley,

1983). Además, hembras de esta misma especie, ovariectomizadas y tratadas con testosterona, producen un canto de liberación aberrante ("atypical ticking"), con un mayor número de pulsos ("clicks") y una alteración en su patrón de emisión (Hannigan y Kelley, 1986).

El hecho de que sólo el número de notas y no otro componente temporal aparezca influido por el nivel de T, puede deberse a un efecto diferencial de la testosterona o sus metabolitos, dihidrotestosterona y estradiol, en componentes discretos del sistema vocal, por ejemplo: laringe, músculos laríngeos intrínsecos, neuronas motoras, núcleos vocales del CNS (Hannigan y Kelley, 1986; Kelley, 1980; Schmidt, 1980, 1983)

Los niveles más bajos de T, que presentaron los machos aislados, en comparación con aquellos que interactuaban en coros, sugiere que los estímulos sociales pueden inducir cambios en los niveles de andrógenos en esta especie.

Rápidas y notables variaciones en la concentración de hormonas en el torrente sanguíneo, debidas a las interacciones sociales de los animales, han sido descritas previamente en aves y mamíferos (Becker et al, 1992; Harding, 1981; Wingfield y Wada, 1989). En peces, la mantención de machos en aislamiento social produce una significativa reducción en los niveles de T y

corticoesteroides, en relación a machos mantenidos en un ambiente social, sugiriendo que los estímulos sociales inducirían un incremento en la producción testicular de hormonas androgénicas (Hannes y Franck, 1983).

En anuros, existen antecedentes de cambios hormonales relacionados con estímulos sociales. En Bufo marinus se determinó una relación inversa entre la distancia a que se encontraban los machos de las agregaciones reproductivas y la concentración de T plasmática (Orchinik et al, 1988). En Rana temporaria, machos estimulados con el canto de advertencia homoespecífico, presentaron un mayor volumen testicular y tamaño de células y núcleos en el tejido intersticial, que el grupo control (Brzoska y Obert, 1980). Esta evidencia sugiere que los mayores niveles de T se alcanzan cuando los machos de P. thaul se encuentran en los coros y no previamente a su incorporación.

Por otra parte, los estímulos sexuales, aparentemente, producen en los machos anuros respuestas androgénicas diferentes, según el tipo de reproducción de la especie. Los machos de P. thaul, como los de Rana catesbeiana (Mendonca et al, 1985), ambos reproductores prolongados, no presentaron una alteración significativa en sus niveles de T al encontrarse en amplexo sexual. En cambio, reproductores explosivos como Eleutherodactylus coqui (Towsend y Moger, 1987), Bufo marinus (Orchinik et al,

1988), aumentan significativamente su concentración de T plasmática al encontrarse en esta condición. Sin embargo, la existencia de este patrón requiere estudiar esta respuesta en un mayor número de especies que difieran en su modalidad reproductiva.

La tendencia observada en P. thaul, a una disminución en el curso de la ontogenia en los niveles de T, debe ser confirmada y considerada como un factor relevante en la conductas reproductivas de este y otros anuros. De particular interés es la influencia que ejerce la T en el canto de advertencia de P. thaul, ya que la variación de sus niveles con la edad, estímulos sociales y estrés, pueden afectar en último término, el éxito reproductivo de los machos.

4.5.- ESPACIAMIENTO Y CONDUCTA VOCAL DE P. thaul EN LAS AGREGACIONES REPRODUCTIVAS.

La influencia de las interacciones sociales en la conducta vocal ha sido extensamente estudiada en los años recientes. Los encuentros antagonistas afectan la estructura espectral (López et al, 1988; Wagner, 1989b) y temporal (e.g. Schwartz 1989; Wells, 1989) de los componentes del canto. En P. thaul, la agresividad de las respuestas vocales está conspicuamente codificada en la duración de los pulsos. En experimentos de estimulación con

cantos naturales, los machos responden a estímulos de intensidades aproximadas a 90 dB SPL (peak) con pulsos prolongados que no son producidos en respuestas a estímulos de menor intensidad. La duración del canto también varía con la intensidad del estímulo (Penna y Solís, 1992), sugiriendo que este parámetro es afectado por las interacciones sociales en las agregaciones corales naturales. En Bufo valliceps, la frecuencia y esfuerzo de canto varía con la densidad del coro (Sullivan y Wagner, 1988) y la duración del canto es afectada por el espaciamiento entre los machos en Hyla versicolor (Wells y Taigen, 1986).

De acuerdo al criterio utilizado por Brown y Pierce (1967), que considera: el tamaño del coro, frecuencia con que los machos vocalizan y la facilidad con que son inhibidos de cantar, P. thaul conforma coros de intensidad intermedia y predominantemente, de intensidad baja. Sólo el coro observado a comienzos de la temporada reproductiva de 1992 y el situado en el tranque Los Alcones (Agua Buena) presentaron intensidad intermedia. Probablemente, la intensidad de los coros varíe con el hábitat acuático en que se encuentre (Brown y Pierce, 1967) y también con la etapa de la temporada reproductiva. Inicialmente, durante la instalación del coro, un número creciente de machos puede acudir a las pozas y charcos, determinando cortas

distancias interindividuales, frecuentes interacciones e inestabilidad temporal y espacial en sus ubicaciones. Posteriormente, con el alejamiento de un cierto número de individuos o la redistribución de los mismos en el lugar, se alcanzaría la estabilidad y estructura (intensidad baja), que fue característica de los coros observados en etapas posteriores del período de apareamiento.

La menor intensidad del canto observada en los machos aislados es congruente con los resultados de los experimentos de estimulación. Cuando la intensidad del estímulo fue similar a la del ruido de fondo o a la mínima registrada de un vecino más próximo (< 58 dB SPL; Tabla 4) en la posición del animal estimulado, se obtuvieron los valores más bajos de intensidad de sus respuestas (Tabla 5 y Fig 17; b y c). Estímulos de mayor intensidad, similares o mayores al promedio de intensidad percibido por machos en interacción dentro de los coros (> 73 dB SPL; Tabla 4), produjeron un ligero incremento en la amplitud de las respuestas, que osciló entre 0.5 y 4.5 dB SPL. Esto sugiere que la menor intensidad de las vocalizaciones de los machos aislados, es debida a la ausencia de interacciones acústicas.

Pequeñas diferencias en la presión de sonido, como las observadas en las respuestas de los machos, pueden traducirse en sustanciales diferencias en el costo

energético del canto. Un incremento de 6 dB equivale a un aumento aproximado de cuatro veces en la potencia del sonido (medida en watts) (Wells y Taigen, 1992). Esto sugiere que en cualquier situación, los machos debieran emitir sus cantos con la menor intensidad posible, con el fin de minimizar su gasto energético.

La ley del inverso al cuadrado de la atenuación del sonido, predice una reducción de 6 dB SPL cada vez que se duplica la distancia desde una fuente de sonido omnidireccional (Gerhardt, 1975). Si se considera la intensidad promedio con que emiten (86 dB SPL) y perciben (73 dB SPL) las vocalizaciones los machos que interactúan en coros estables (Tabla 4), es posible estimar la distancias interindividuales, en función de las características de propagación del sonido. De esta forma, si la intensidad del canto de un macho a 50 cm es 86 dB SPL, a 1 m será de 80 dB SPL y a 2 m de 74 dB SPL. Este último valor de intensidad, es similar con el que perciben los machos el canto de sus vecinos. Luego, la ley del inverso al cuadrado para la atenuación del sonido predice distancias interindividuales ligeramente superiores a dos metros, lo cual concuerda aproximadamente con las observadas, si se consideran efectos acústicos de un lugar no homogéneo (vegetación, grandes piedras, etc.). Un cálculo similar, realizado con la intensidad de estimulación por

sobre la cual se observaron los cambios conductuales más notables (84 dB SPL; Fig. 17b, c y d), da por resultado una distancia interindividual inferior a un metro. Esta distancia correspondería a la mínima tolerada por un macho, en un coro estable de intensidad baja. Argumentos de tipo energético y de interferencia acústica, pueden hacer insostenible la mantención de interacciones a tan corta distancia, por periodos de tiempo prolongados. Esto concuerda con lo observado en los coros de densidad intermedia (ver 3.2).

En conjunto, los resultados indican que P. thaul presenta una respuesta graduada ante la proximidad de un intruso. El contenido agresivo de la respuesta estaría dado por un moderado aumento inicial de la intensidad de su canto. Ante un mayor acercamiento del intruso, P. thaul modificaría la estructura temporal de su canto (Penna y Solís, 1992). Respuestas agresivas graduadas en función de la intensidad del canto de los vecinos, que involucran cambios en el tipo de canto, modificación de su estructura o incluso agresión física, han sido descritas en varias especies (Brenowitz, 1989; Brzoska y Schneider, 1982; Rose y Brenowitz, 1991; Wagner Jr., 1989); en contextos similares.

Las neuronas del sistema auditivo central (torus semicircularis) de los machos de P. thaul, están

sintonizadas a las frecuencias de su canto de advertencia, presentando umbrales mínimos de 30 dB SPL alrededor de su frecuencia dominante (2100 Hz)(Penna et al, datos no publicados). Este valor es 25 dB más bajo que el mínimo utilizado en los experimentos de estimulación y 43 dB menor que la intensidad promedio (rango 58-82 dB SPL) de los vecinos más próximos. Estos resultados indican que los machos se ubican en lugares en donde la intensidad del canto de sus vecinos más próximos es bastante superior a su umbral auditivo. Un comportamiento similar ha sido descrito en Hyla crucifer, pero utilizando como umbral de referencia (64 dB SPL), determinado en experimentos de estimulación, a la intensidad mínima que evocaba respuestas (Gerhardt et al, 1989).

El incremento de la vegetación hacia el final de la época reproductiva, podría modificar la estructura del coro. Si ha de mantenerse el espaciamiento en función de un umbral acústico, la atenuación del canto de sus vecinos por la presencia de vegetación, debiera generar una disminución compensatoria de las distancias interindividuales. Si por el contrario, lo determinante es una distancia mínima, debiera observarse una gran variabilidad en la intensidad del canto de los vecinos más próximos. Wilczynski y Brenowitz (1988), sometieron a prueba estas hipótesis en una especie arbórea (Eleutherodactylus diastema),

determinando que la amplitud del canto de los vecinos es menos variable, siendo la clave que regula el espaciamiento de los machos. De acuerdo a los resultados (Tabla 4), P. thaul emplearía un mecanismo similar al descrito en E. diastema.

Aparentemente, la organización espacial de los coros de especies con reproducción prolongada, es función de las interacciones acústicas, las cuales regulan la distancia interindividual y al mismo tiempo aseguran la permanencia de los machos dentro del coro (Brenowitz et al, 1984). La importancia de este mecanismo ha sido reafirmada por un estudio realizado en Rana blythi, cuyos machos no vocalizan y presentan un patrón de dispersión azaroso, relacionado con la ubicación de los sitios de nidificación disponibles (Emerson y Inger, 1992).

5.- CONCLUSIONES

Características físicas y fisiológicas están codificadas en los componentes temporales y espectrales del canto de advertencia de Pleurodema thaul. La frecuencia dominante, es un índice de la talla de los machos. La duración del canto es un indicador de la condición nutricional y el número de pulsos, a través de su relación con la concentración de testosterona plasmática, indica la condición reproductiva y eventualmente la disposición motivacional de los machos a aparearse. La relación de estos factores con la estructura del canto, puede ser utilizada por los machos para estimar las características de sus rivales y por las hembras en la elección de pareja.

No existe evidencia de las capacidades discriminativas, ni de la manera en que operarían eventuales mecanismos de reconocimiento, durante las interacciones sociales de P. thaul. Sin embargo, en la pequeña muestra de machos capturados en amplexo, la talla ni la condición nutricional fue diferente de la observada en machos no apareados, lo cual sugiere que estos atributos son más relevantes en las interacciones entre los machos, que para las hembras en la elección de pareja.

Las observaciones de fidelidad por el lugar de canto, espaciamiento y conducta vocal de los machos en los coros,

indican la existencia de conducta territorial en P. thaul. Los territorios son delimitados acústicamente y pueden representarse por una circunferencia con centro en el macho residente y un radio entre uno y dos metros.

El ambiente social aparece como uno de los factores más relevantes en la conducta vocal de P.thaul. El número de machos presente en los coros puede determinar de manera directa la intensidad de las vocalizaciones y con ello su distribución espacial. En forma indirecta, el ambiente social puede influir en la estructura del canto, a través de su efecto en los niveles de T de los machos.

Los resultados obtenidos, dan sustento al modelo de múltiples vías adoptado en este trabajo. Los efectos independientes de la condición nutricional y de los niveles de testosterona en la estructura del canto, sugiere que estos factores ejercen su influencia en diferentes núcleos a nivel del SNC central y/o vías motoras, implicados en la emisión acústica.

La influencia del ambiente social, conjuntamente con las demás relaciones establecidas en esta tesis, configuran un compleja red de influencias e interacción de factores que determinan la conducta vocal de P. thaul.

El estudio realizado, pone de manifiesto la validéz y alcance de un enfoque integrativo, para abordar los

fenómenos conductuales. Estos, por constituir la expresión observable de una compleja interacción de múltiples factores, hace necesario incorporar en su análisis la mayor cantidad de variables. Sólo de esta manera, se puede obtener una real comprensión de los mecanismos que subyacen a la conducta y a su inherente variabilidad.

BIBLIOGRAFIA

- Acker, P. M., K. C. Kruse, y E. B. Krehbiel. 1986. Aging Bufo americanus by skeletochronology. J. Herpetol. 20(4):570-574.
- Arak, A. 1983. Sexual selection by male-male competition in natterjack toad choruses. Nature. 306:261-262.
- Arak, A. 1988. Female mate selection in the natterjack toad: active choice or passive attraction?. Behav. Ecol. Sociobiol. 22:317-327.
- Awbrey, F. T. 1978. Social interaction among chorusing Pacific tree frogs, Hyla regilla. Copeia. 2:208-214.
- Backwell, P.R.Y. y Passmore, N.I. 1990a. Aggressive interactions and male spacing in choruses of the leaf-folding frog, Afrixalus delicatus. S. Afr. J. Zool. 25(2):133-137.
- . 1990b. Suitable approach perches affect female phonotaxis in an arboreal frog. Herpetologica. 46(1):11-14.
- Becker, J.B., Breedlove, S.M. y Crews, D. 1992. Behavioral Endocrinology. The MIT Press, Cambridge.

- Bennett, A. F. 1986. Measuring behavioral energetics. 69-81. In: Predator-prey Relationships. Perspectives and Approaches from the Study of Lower Vertebrates. Eds. Martin E. Feder and George V. Lauder. The University of Chicago Press, London.
- Bourne, G.R. 1992. Lekking behavior in the neotropical frog Ololygon rubra. Behav. Ecol. Sociobiol. 31:173-180.
- Brenowitz, E.A., Wilczynski, W. y Zakon, H.H. 1984. Acoustic communication in spring peepers. Environmental and behavioral aspects. J. Comp. Physiol. A 155:585-592.
- Brenowitz, E.A. 1989. Neighbor call amplitude influences aggressive behavior and intermale spacing in choruses of the Pacific treefrog (Hyla regilla). Ethology. 83:69-79.
- Brown, L.E. y Pierce, J.R. 1967. Male-male interactions and chorusing intensities of the Great Plains toad, Bufo cognatus. Copeia. 149-154.
- Brzoska, J. y Obert, H.J. 1980. Acoustic signals influencing the hormone production of the testes in the grass frog. J. Comp. Physiol. A 140:25-29.

- Brzoska, J. y Schneider, H. 1982. Territorial behavior and vocal response in male Hyla arborea savignyi (Amphibia:Anura). Israel Journal of Zoology. 31:27-37.
- Bucher, T. L., M. J. Ryan, y G. A. Bartholomew. 1982. Oxygen consumption during resting, calling, and nest building in the frog Physalaemus pustulosus. Physiol. Zool. 55(1):10-22.
- Callard, G.V., Petro, Z. y Ryan, K. 1978. Conversion of androgen to estrogen and other steroids in vertebrate brain. Amer. Zool. 18:511-523.
- Cherry, M. I. 1993. Sexual selection in the racous toad, Bufo rangeri. Anim. Behav. 45:359-373.
- Crews, D. y Moore, M.C. 1986. Evolution of mechanisms controlling mating behavior. Science. 231:121-125.
- Davies N. B. y T. R. Halliday. 1978. Deep croaks and fighting assessment in toads Bufo bufo. Nature. Lond., 274:683-685.
- Duellman, W.E. 1992. Estrategias reproductoras de la ranas. Investigación y Ciencia. Septiembre 1992.

- Dyson, M.L. y Passmore, N.I. 1992. Inter-male spacing and aggression in african painted reed frogs, Hyperolius marmoratus. Ethology. 91:237-247.
- Emerson, S.B. y Inger, R.F. 1992. The comparative ecology of voiced and voiceless Bornean frogs. J. Herpetol. 26(4):482-490.
- Emlen, S.T. y Oring, L.W. 1977. Ecology, sexual selection, and evolution of mating systems. Science. 197:215-223.
- Gayou, D. C. 1984. Effects of temperature on the mating call of Hyla versicolor. Copeia 3:733-738
- Gerhardt, H. C. 1975. Sound pressure levels and radiation patterns of the vocalizations of some North American frogs and toads. J. Comp. Physiol. 102: 1-12.
- Gerhardt, H. C. 1982. Sound pattern recognition in some North American treefrogs (Anura: Hylidae): implications for mate choice. Amer. Zool. 22:581-595.
- Gerhardt, H.C. 1987. Evolutionary and neurobiological implications of selective phonotaxis in the green treefrog, Hyla cinerea. Anim. Behav. 35:1479-1489.

- Gerhardt, H.C., Diekamp, B. y Ptacek, M. 1989. Inter-male spacing in choruses of the spring peeper, Pseudacris (Hyla) crucifer. Anim. Behav. 38:1012-1024.
- Gerhardt, H. C. 1991. Female mate choice in treefrogs: statics and dynamics acoustic criteria. Anim. Behav. 42:615-635.
- Gibbons, M. M. y T. K. McCarthy. 1984. Growth, maturation and survival of frogs Rana temporaria L. Holartic Ecology. 7:419-427.
- Gittings, S. P., J. E. Steeds, y R. Williams. 1982. Population age-structure of the common toad (Bufo bufo) at a lake in mid-wales determined from annual growth rings in the phalanges. Brit. J. Herpetol. 6:249-252.
- Given, M. F. 1988. Growth rate and the cost of calling activity in male carpenter frogs, Rana virgatipes. Behav. Ecol. Sociobiol. 22:153-160.
- Halliday, T. R. y P. A. Verrel. 1988. Body size and age in amphibians and reptiles. J. Herpetol. 22(3):253-265.

- Hannes, R.P y Franck, D. 1983. The effect of social isolation on androgen and corticosteroid levels in a cichlid fish (Haplochromis burtoni) and in swordtails (Xiphophorus helleri). *Horm. Behav.* 17:292-301.
- Hannigan, P. y Kelley, D.B. 1986. Androgen-induced alterations in vocalizations of female Xenopus laevis: modifiability and constrains. *J. Comp. Physiol. A* 158:517-527.
- Harding, C.F. 1981. Social modulation of circulating hormone levels in the male. *Amer. Zool.* 21:223-231.
- Hemelaar, A. S. M. y J. J. Van Gelder. 1980. Annual growth rings in phalanges of Bufo bufo (Anura, Amphibia) from the Netherlands and their use for age determination. *Netherlands Journal of Zoology.* 30(1):129-135.
- Heymsfield, S. B., A. Tighe, y Z. M. Wang. 1994. Nutritional assessment by anthropometric and biochemical methods. Pp. 812-841. *In* M. E. Shils, J. A. Olson, and M. Shike (Eds.), *Modern Nutrition in Health and Disease*. Lea & Febiger, Philadelphia.

- Kalb, H. J. y G. R. Zug. 1990. Age estimates for a population of american toads, Bufo americanus (Salientia: Bufonidae), in northern Virginia. *Brimleyana*. 16:79-86.
- Kelley, D.B. 1980. Auditory and vocal nuclei in the frog brain concentrate sex hormones. *Science*. 207:553-555.
- Ketterson, E.D. y Nolan Jr., V. 1992. Hormones and life histories: an integrative approach. *Am. Nat.* 140:S33-S62.
- Licht, P., McCreery, B.R., Barnes, R. y Pang, R. 1983. Seasonal and stress related changes in plasma gonadotropins, sex steroids, and corticosterone in the bullfrog, Rana catesbeiana. *Gen. and Comp. Endocrinol.* 50:124-145.
- Lopez, P. T., P. M. Narins, E. R. Lewis, y S. W. Moore. 1988. Acoustically induced call modification in the white-lipped frog, Leptodactylus albilabris. *Anim. Behav.* 36:1295-1308.
- Lykens, D. V. y D. C. Forester. 1987. Age structure in the spring peeper: do males advertise longevity?. *Herpetologica* 43(2):216-223.

- Mendonca, M.T., Licht, P., Ryan, M.J. y Barnes, R. 1985. Changes in hormone levels in relation to breeding behavior in male bullfrogs (Rana catesbeiana) at the individual and population levels. *Gen. Comp. Endocrinol.* 58:270-279.
- Moore, M.C. y Marler, C.A. 1988. Hormones, behavior, and the environment: an evolutionary perspective. pp.:71-83. En: *Processing of Environmental Information in Vertebrates.* Ed. Milton H. Stetson. Springer-Verlag, New York.
- Moore, F.L. 1983. Behavioral endocrinology of amphibian reproduction. *BioScience.* 33(9):557-561.
- Moore, F.L. 1990. Amphibian model system for problems in behavioral neuroendocrinology. *The Journal of Experimental Zoology Supplement.* 4:157-158.
- Moore, F.L., Spielvogel, S.P., Zoeller, R.T. y Wingfield, J. 1983. Testosterone-binding protein in a seasonally breeding amphibian. *Gen. Comp. Endocrinol.* 49:15-21.
- Moore, F.L. y Deviche, P. 1988. Neuroendocrine processing of environmental information in amphibians. pp.:19-44. En: *Processing of Environmental Information in Vertebrates.* Ed. Milton H. Stetson. Springer-Verlag, New York.

- Orchinik, M., Licht, P. y Crews, D. 1988. Plasma steroids concentrations change in response to sexual behavior in Bufo marinus. *Horm. Behav.* 22:338-350.
- Penna, M. y A. Veloso. 1982. The warning vibration of Pleurodema thaul. *J. Herpetol.* 16(4):408-410. Penna, M. y A. Veloso. 1990. Vocal diversity in frogs of the South American temperate forest. *J. Herpetol.* 24(1):23-33.
- Penna, M. y R. Solís. 1992. Canto nupcial evocado en el sapo de cuatro ojos, Pleurodema thaul. IV Congreso Nacional y I Iberoamericano de Etología. España. Resúmenes p. 34.
- Penna, M., Capranica, R.R. y Somers, J. 1992. Hormone-induced vocal behavior and midbrain auditory sensitivity in the green treefrog, Hyla cinerea. *J. Comp. Physiol. A* 170:73-82.
- Ramer, J. D., T. A. Jenssen y C. J. Hurst. 1983. Size-related variation in the advertisement call of Rana clamitans (Anura: Ranidae), and its effects on conspecific males. *Copeia*. 1:141-155.
- Reading, C. J. 1991. The relationship between body length, age and sexual maturity in the common toad, Bufo bufo. *Holarct. Ecol.* 14:245-249.

- Robertson, J. G. M. 1984. Acoustic spacing by breeding males of Uperoleia rugosa (Anura:Leptodactylidae). *Z. Tierpsychol.* 64:283-297.
- , 1986. Female choice, male strategies and the role of vocalizations in the Australian frog Uperoleia rugosa. *Anim. Behav.* 34:773-784.
- Roithmair, M.E. 1992. Territoriality and male mating success in the dart-poison frog, Epipedobates femoralis (Dendrobatidae, Anura). *Ethology.* 92:331-343.
- Rose, G.J. y Brenowitz, E.A. 1991. Aggressive thresholds of male Pacific treefrogs for advertisement calls vary with amplitude of neighbors' calls. *Ethology.* 89:244-252.
- Ruiz, G., Rosenmann, M. y Veloso, A. 1987. Valores hematológicos y distribución altitudinal de anfibios chilenos. *Arch. Biol. Med. Exp.* 20:79-84.
- Ryan, M. J. 1983. Sexual selection and communication in a neotropical frog, Physalaemus pustulosus. *Evolution.* 37:261-272.
- Ryan, M. J. 1985. Energetic efficiency of vocalization by the frog Physalaemus pustulosus. *J. Exp. Biol.* 116(47):47-52.

- Schmidt, R.S. 1980. Development of anuran calling circuits: effects of testosterone propionate injections. Gen. Comp. Endocrinol. 41:80-83.
- , 1982. Masculinization of toad pretrigeminal nucleus by androgens. Brain Research. 244:190-192.
- , 1983. Neural correlates of frog calling. Masculinization by androgens. Horm. Behav. 17:94-102.
- Schwartz, J. J. 1989. Graded aggressive calls of the spring peeper, Pseudacris crucifer. Herpetologica 45(2):172-181.
- Silver, R. y Cooper, M. 1983. Avian behavioral endocrinology. BioScience. 33(9):567-572.
- Stewart, M.M. y Pough, F.H. 1983. Population density of tropical forest frogs: relation to retreat sites. Science. 221:570-572.
- Sullivan, B. K. 1982. Significance of size, temperature and call attributes to sexual selection in Bufo woodhousei australis. J. Herpetol. 16(2):103-106.
- , 1989. Mating system variation in Woodhouse's toad (Bufo woodhousii). Ethology. 83:60-68.

Sullivan, B. K. 1992. Calling behavior of the southwestern toad (Bufo microscaphus). *Herpetologica* 48(4):383-389.

Sullivan, B. K. y W. E. Wagner Jr. 1988. Variation in advertisement and release calls, and social influences on calling behavior in the gulf coast toad (Bufo valliceps). *Copeia*. 4:1014-1020.

Sullivan, K. B. y S. H. Hinshaw. 1990. Variation in advertisement calls and male calling behavior in the spring peeper (Pseudacris crucifer). *Copeia*. 4:1146-1150.

Sullivan, B. K. y K. B. Malmos. 1994. Call variation in the Colorado River toad (Bufo alvarius): behavioral and phylogenetic implications. *Herpetologica*. 50(2):146-156.

Taigen, T. L. y K. D. Wells. 1985. Energetics of vocalization by an anuran amphibian (Hyla versicolor). *J. Comp. Physiol. B*. 155(2):163-170.

Tejedo, M. 1992. Large male mating advantage in natterjack toads, Bufo calamita: sexual selection or energetic constraints?. *Anim. Behav.* 44:557-569.

- Telford, S.R. 1985. Mechanisms and evolution of inter-male spacing in the painted reedfrog (Hyperolius marmoratus). Anim. Behav. 33:1353-1361.
- Townsend, D.S. y Moger, W.H. 1987. Plasma androgen levels during male parental care in a tropical frog (Eleutherodactylus). Horm. Behav. 21:92-99.
- Townsend, D.S., Palmer, B. y Guillette Jr., L.J. 1991. The lack of influence of exogenous testosterone on male parental behavior in a neotropical frog (Eleutherodactylus): a field experiment. Horm. Behav. 25:313-322.
- Wagner Jr, W. E. 1989a. Social correlates of variation in male calling behavior in Blanchard's cricket frog, Acris crepitans blanchardi. Ethology 82:27-45.
- . 1989b. Fighting, assessment, and frequency alteration in Blanchard's cricket frog. Behav. Ecol. Sociobiol. 25:429-436.
- . 1989. Graded aggressive signals in Blanchard's cricket frog: vocal responses to opponent proximity and size. Anim. Behav. 38:1025-1038.

- , 1992. Deceptive or honest signalling of fighting ability? A test of alternative hypotheses for the function of changes in call dominant frequency by male cricket frogs. *Anim. Behav.* 44:449-462.
- Wells, K. D. 1977. The social behaviour of anuran amphibians. *Anim. Behav.* 25:666-693.
- Wells, K. D. y Schwartz, J. J. 1982. The effect of vegetation on the propagation of calls in the neotropical frog Centrolenella fleischmanni. *Herpetologica*. 38(4):449-455.
- Wells, K. D. y Taigen, T. L. 1986. The effect of social interactions on calling energetics in the gray treefrog (Hyla versicolor). *Behav. Ecol. Sociobiol.* 19:9-18.
- Wells, K. D. 1989. Vocal communication in a neotropical treefrog Hyla ebraccata: responses of males to graded aggressive calls. *Copeia*. 2:461-466.
- Wells, K. D. y T. L. Taigen. 1989. Calling energetics of a neotropical treefrog, Hyla microcephala. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 25:13-22.

- , 1992. The energetics of reproductive behavior. En: Environmental Physiology of the Amphibians. Ed. Martin E. Feder y Warren W. Burggren. The University of Chicago Press, Chicago. pp. 410-436.
- Wetzel, D.M. y Kelley, D.B. 1983. Androgen and gonadotropin effects on male mate calls in South African clawed frogs, Xenopus laevis. Horm. Behav. 17:388-404.
- Whitney, C. L. y Krebs, J. R. 1975. Spacing and calling in Pacific tree frogs, Hyla regilla. Can. J. Zool. 53:1519-1527.
- Whitney, C. L. 1980. The role of the "encounter" call in spacing of Pacific tree frogs, Hyla regilla. Can. J. Zool. 58:75-78.
- Wilczynski, W. y Brenowitz, E. A. 1988. Acoustic cues mediate inter-male spacing in a neotropical frog. Anim. Behav. 36:1054-1063.
- Wilczynski, W. y Ryan, M.J. 1988. The amphibian auditory system as a model for neurobiology, behavior, and evolution. En: Fritsch B., Ryan M.J., Wilczynski W., Hetherington T.E., Walkowiak W. (Eds). The Evolution of the Amphibian Auditory System. John Wiley & Sons. New York, pp 3-12.

- Wingfield, J.C. y Wada, M. 1989. Changes in plasma levels of testosterone during male-male interactions in the song sparrow, Melospiza melodia: time course and specificity of response. J. Comp. Physiol. A 166:189-194.
- Zerani, M., Amabili, F., Mosconi, G. y Gobbetti, A. 1991. Effects of captivity stress on plasma steroid levels in the green frog, Rana esculenta, during the annual reproductive cycle. Comp. Biochem. Physiol. 98A(3/4):491-496.
- Zweifel, R. G. 1968. Effects of temperature, body size, and hybridization on mating calls of toads, Bufo a. americanus and Bufo woodhousii fowleri. Copeia 2:269-285.