

La teoría del filtro ajustado en frecuencia se cumple en la
respuesta fonotáctica de *Epipedobates boulengeri*

David R. Aguilar Pardo

Trabajo de grado presentado para optar al título de *Magister*
en Biología

Director: Adolfo Amézquita . Ph.D.

Codirectora: Lina Castellanos. M.Sc.

Evaluador externo: Martha Bohorquz. M.Sc.

Universidad de los Andes
Facultad de Ciencias
Departamento de Ciencias Biológicas

Bogotá D.C.

2003

Resumen : La comunicación acústica es la modalidad más importante para la biología de los anuros. En este sistema se ha sugerido una sintonización entre los sistemas de producción de señales en los emisores y los sistemas de percepción en los receptores que facilite los procesos de comunicación. Tal sintonización se ha demostrado a un nivel fisiológica entre las fibras del oído interno y la frecuencia dominante de la llamada de advertencia dentro de una misma especie. Algunos estudios muestran una correlación entre los patrones fisiológicas y las respuestas comportamentales de fonotácticas de las hembras. Sin embargo es poco lo que se ha hecho con los machos en este sentido. En este trabajo se quiere probar si existe una correlación entre la frecuencia dominante de la llamada de advertencia de *Epipedobates boulengeri* y la respuesta fonotáctica de los machos. Se encontró que las frecuencias a las que con más probabilidad responden los machos coinciden con la frecuencia dominante de la llamada de advertencia. La amplitud de la curva de probabilidad de respuesta en relación con la frecuencia del estímulo resultó ser bastante estrecha ajustándose casi exactamente a la distribución de frecuencia dominante para los emisores. Además se encontró un segundo pico de alta probabilidad de respuesta aparte del relacionado con el rango de frecuencia alrededor de la frecuencia dominante de la llamada de advertencia de esta especie.

Palabras clave : Señales acústicas, decodificación, filtro ajustado, *playback*, respuestas comportamentales.

INTRODUCCION :

Las señales acústicas son las más relevantes en la biología de los anuros pues juegan un papel clave en la reproducción y por ende están involucradas en el reconocimiento de especie (Schwartz, 1987), la elección de pareja (Backwell & Jennions, 1993), la resolución de conflictos agonísticos (Given, 1987) y el aislamiento reproductivo (Sullivan, 1989). Este sistema de comunicación ha sido estudiado a distintos niveles, incluyendo la estimación de los costos involucrados en la producción de señales (Mac Nally, 1984), la forma como éstas se propagan por el medio (Wells & Schwartz, 1982), la organización antifonal de los machos dentro de un coro (Grafe, 1996), la preferencia de las hembras por cierto tipo de cantos (Lopez & Narins, 1991), la función de las llamadas como indicadores honestos de la condición física de los machos (Otter, et al., 1997) y la decodificación de las señales en el sistema nervioso de los receptores (Narins & Zelick, 1988)

En el proceso de decodificación de señales por parte de los receptores, los patrones temporales de producción de sonido y/o la composición espectral de la señal, son características que determinan el tipo y la intensidad de la respuesta de los receptores (Schwartz, 1987; Gerhardt, 1988; Gerhardt & Schul, 1999). Se ha propuesto que células especializadas en diferentes niveles del sistema auditivo, actúan a manera de filtros,

respondiendo a estímulos con características temporales o espectrales específicas (Walkowiak, 1988; Narins, 1992). Para algunas especies de anuros la sintonización del sistema auditivo con sonidos de cierta frecuencia, se ha evidenciado en la respuesta de las células receptoras primarias presentes en el oído interno (Capranica, 1992). Estos filtros aparecen también en las fibras que van de las células receptoras primarias hacia el sistema nervioso central formando el octavo nervio (nervio auditivo) (Ryan, 1992) y en algunos ganglios cerebrales (como el *torus semicircularis*) donde terminan estas vías aferentes (Hall, 1994). A partir de estos trabajos se han construido curvas de sensibilidad espectral para varias especies de ranas.

En estudios sobre la sensibilidad espectral se ha medido la respuesta auditiva básicamente de dos formas: (1) Calculando la mejor frecuencia excitatoria (Jaslow & Lombard, 1996), que es aquella que necesita menos intensidad para producir una respuesta ya sea de células aisladas o fibras nerviosas, y (2) midiendo la tasa de descarga (número de potenciales de acción por unidad de tiempo) (Loftus-Hills & Johnstone, 1971) que evocan estímulos sonoros de diferente frecuencia. En las pocas especies donde existen mediciones de los dos tipos la mejor frecuencia excitatoria coincide significativamente con la frecuencia que evoca una mayor tasa de descarga. (Gerhardt & Huber, 2002).

El estudio de la fisiología del sistema auditivo de los anuros evidencia en general, dos áreas de alta sensibilidad a variaciones en la frecuencia. Estas áreas de mayor sensibilidad están relacionadas con los dos tipos de epitelio que existen en el oído interno de los anuros: la papila *amphibiorum* y la papila basilar (Schneichel & Schneider, 1988). La primera presenta una anatomía más compleja, una densidad mayor de células receptoras y una organización tonotópica. Esta papila es sensible a frecuencias mucho menores que la papila basilar y se le ha atribuido una función en la detección de potenciales predadores (Gerhardt, 1994) aunque su relevancia en la biología de los anuros es todavía tema de discusión. Por su parte la papila basilar, aunque más simple, juega un papel mucho más claro en la comunicación, pues a través de estudios fisiológicos se ha mostrado para muchas especies una correlación significativa entre la mejor frecuencia excitatoria de esta papila y la frecuencia dominante de la correspondiente llamada de advertencia. No obstante el rango

de mayor sensibilidad auditiva puede, varía hasta en un 20% alrededor de la frecuencia dominante de la llamada. (Gerhardt & Schwartz, 2001).

La existencia de esta correlación entre sensibilidad espectral y frecuencia del canto sugiere una coevolución entre los sistemas de producción de señales en los emisores y los sistemas de percepción de los receptores, que facilitaría el reconocimiento de especie. Además un rango de mayor sensibilidad ceñido alrededor de la frecuencia dominante sería conveniente en condiciones ecológicas donde la competencia por el espacio acústico es alta y la utilización de canales estrechos de comunicación es favorable. Sin embargo hay dos factores a tener en cuenta para comprobar una función del ajuste entre sistemas de producción y percepción. En primer lugar, el ajuste entre frecuencia de la señal y la fisiología del sistema auditivo de los receptores no garantiza que éstos expresen una respuesta comportamental en la misma dirección. Lo anterior debido a que, en general, el comportamiento es el componente fenotípico más plástico, y su expresión se ve afectada por una compleja interacción entre rasgos fenotípicos de los individuos. Además en el caso específico de los anuros la comunicación ocurre a niveles de presión de sonido muy por encima de aquellos utilizados en los experimentos necesarios para la construcción de las curvas de sensibilidad de sus sistemas auditivos (Gerhardt, 1987). Por esto, la forma de tales curvas puede no tener en la naturaleza un efecto significativo sobre el resultado de los procesos de comunicación. En segundo lugar, la sintonización entre emisores y receptores puede evolucionar por procesos independientes de las presiones relacionadas con el reconocimiento de especie y la competencia por el espacio acústico. Tal sintonización puede deberse a una correlación genética entre sistemas de emisión y percepción (Ryan et al., 1990), a restricciones en el desarrollo (Gerhardt, 1994) o a un sesgo sensorial en las hembras y la consecuente selección sexual sobre los machos (Ryan & Keddy-Hector, 1992).

Existen trabajos que comparan datos fisiológicos y comportamentales, mostrando en algunos casos que las curvas de sensibilidad espectral de las fibras nerviosas en el oído medio se correlacionan bien con la elección de un estímulo auditivo por parte de las hembras durante experimentos de *playback* (Diekamp & Gerhardt, 1995). Sin embargo en

otros estudios, una predicción del comportamiento a partir de las curvas de sensibilidad espectral es inexacta (Schwartz & Gerhardt, 1998). En cualquier caso, la mayoría de estos trabajos han sido realizados en experimentos de laboratorio y no han medido la respuesta comportamental de los machos.

La inclusión de los machos en los estudios sobre sensibilidad espectral es importante para avanzar en el entendimiento de la evolución de los sistemas de comunicación en los anuros pues las preguntas que tiene que resolver cada uno de los sexos en los procesos de comunicación pueden ser distintas y, por ende, las presiones selectivas sobre las respuestas de machos y hembras ante un mismo estímulo pueden no ser las mismas. Un dimorfismo sexual en cuanto a la sintonización de la papila basilar se ha mostrado para algunas especies aunque tal dimorfismo no es claramente separable de la relación negativa entre tamaño y sintonización de la papila basilar (Keddy-Hector & Wilczynski, 1992). Experimentos de *playback* donde se mide la respuesta comportamental de los machos, se han realizado en varias especies de anuros (Sullivan, 1985; Bosch & Márquez, 1996; Narins & Hold, 2003) pero pocos se han centrado en cómo cambia dicha respuesta en relación con la frecuencia del estímulo sonoro (Zelick & Narins, 1982). Experimentos de este tipo se necesitan para aclarar si el ajuste se expresa no sólo en los patrones de selección por parte de las hembras sino también en los comportamientos agonísticos de los machos en donde se ven involucradas presiones selectivas diferentes.

Si la sintonización entre las características espectrales de las señales acústicas producidas por los emisores y los sistemas de percepción de los receptores ha evolucionado por procesos relacionados con el reconocimiento de especie y la competencia por el espacio acústico, tanto los sistemas de producción como de percepción de señales deberían presentar una variabilidad que permita y refleje dicha evolución. En otras palabras además de una variabilidad natural intra-poblacional se esperaría una variabilidad inter-poblacional relacionada con las condiciones bióticas y abióticas locales. Por ejemplo alguna característica espectral de la señal podría hacerla más eficiente al propagarse mejor en el medio donde naturalmente es emitida (Wilczynski & Ryan, 1999; Penna & Solís, 1998). Se ha mostrado también cómo características de la llamada de advertencia cambian entre

poblaciones que viven en simpatría o alopatría con otra especie (Loftus-Hills & Littlejohn, 1971). Además están los casos donde se han encontrado diferencias inter-poblacionales en cuanto a la frecuencia de la llamada de advertencia y a la vez diferencias en la misma dirección en la sintonización de la papila basilar (Ryan & Wilczynski, 1988). La evidencia sugiere que la evolución de la sintonización entre emisores y receptores a través de presiones relacionadas con el reconocimiento de especie y la competencia por el espacio acústico es posible y probable. Por esta razón, el estudio de los sistemas de comunicación en poblaciones bajo condiciones ecológicas particulares, como las que pertenecen a comunidades complejas (Narins, 1995) y aquellas que están en la situación contraria, aisladas de otras especies por barreras geográficas importantes, permitiría poner a prueba predicciones de las diferentes hipótesis acerca de la evolución de un filtro ajustado de frecuencias entre emisores y receptores.

En este estudio se trabajó con la especie *Epipedobates boulengeri* (Anura: Dendrobatidae) en una población donde la competencia por el espacio acústico parece ser muy baja. Por esto se esperaba que la curva de sensibilidad a frecuencia de los receptores mostrara un rango amplio alrededor de la frecuencia dominante de la llamada de advertencia de esta especie. Lo anterior debido a que la aparición de receptores que respondan a frecuencias por fuera del rango de distribución de la llamada de advertencia de la población, sería viable al no estar incurriendo en costos significativos en términos de interacción innecesaria con individuos de otra especie.

El objetivo de este trabajo es probar si tal desajuste entre la distribución natural de la llamada de advertencia y la curva de sensibilidad de los receptores se expresa en el comportamiento agonístico de los machos de *E. boulengeri* en experimentos de *playback* realizados en el campo.

METODO:

Sitio y especie de estudio

El estudio fue realizado entre mayo y julio del 2003 en el Parque Natural Nacional Isla Gorgona (2°58'10''N y 78°11'05''W) departamento del Cauca, Colombia. Esta isla continental se encuentra dentro de la franja del pacífico tropical presentando precipitaciones anuales de hasta 10.000 mm y una temperatura entre 24-32°C, por lo que su vegetación se cataloga como de selva húmeda tropical (Von Pral et al., 1979).

La especie *Epipedobates boulengeri* es un dendrobátido pequeño (distancia rostro-cloacal promedio para los machos = 18.79 mm, ds = 0.59 mm, N = 72) y su actividad reproductiva parece extenderse a lo largo del año. Sus sitios de vocalización se encuentran sobre la hojarasca y a veces elevados unos 15 cm del suelo. Comparte su hábitat con otras seis especies de anuros presentes en la isla, pero solo una de ellas es diurna también. Esta última especie (*Atelopus elegans*) se encuentra asociada a cascadas por lo que sus sitios de vocalización no parecen coincidir en términos generales con los de *E. boulengeri*.

Obtención, análisis y síntesis de los cantos

Para conseguir una muestra de la llamada de advertencia de *E. boluengeri* se procedió a grabar machos que se encontraron cantando en la situación natural. Dichas grabaciones se realizaron a una distancia de 50 cm con un micrófono SHURE BG 4.1 conectado a una grabadora SONY WM - D6C. Los cantos quedaron registrados en cintas cromadas SONY de 60 min. Se grabaron 21 individuos, dos llamadas por cada uno, las cuales fueron digitalizadas y analizadas con el programa de bioacústica *Canary* (Wilkinson, 1994). Con este procedimiento se pudieron estimar valores para la frecuencia dominante, número de notas por llamada, duración del intervalo silencioso entre notas, número de pulsos por nota, duración de los pulsos y duración del intervalo silencioso entre pulsos.

Para la síntesis de las llamadas se utilizó el programa *Cool Edit*, con el cual se produjeron cantos que mantuvieron las características temporales promedio de la muestra y donde se modificó la frecuencia dominante. Se sintetizaron llamadas cuya frecuencia varió hasta 11 desviaciones estándar por encima y por debajo del promedio para esta característica. Con el fin de tener una réplica para cada tratamiento de frecuencia, se generó una segunda serie de llamadas con la correspondiente frecuencia dominante, pero alterando de forma aleatoria las características temporales. Esta aleatorización condujo siempre a parámetros temporales (número de notas, intervalo silencioso entre notas, número de pulsos, e intervalo silencioso entre pulsos) dentro del rango de variación natural obtenido de los 21 individuos. Para calcular los parámetros de cada llamada sintética una matriz de *Excel* generó un número aleatorio dentro de cada uno de estos rangos. Todos los cantos sintéticos fueron codificados y pasados a cintas cromadas SONY de 60 min en un orden aleatorio, con el fin de que el investigador no supiera qué frecuencia era la que se utilizaba en cada experimento de *playback*.

Experimentos de playback

En estos ensayos se presentaron los sonidos sintéticos a machos que se encontraron vocalizando en el campo con lo que se quiso simular la presencia de otro macho. Estos estímulos fueron reproducidos desde una grabadora SONY WM - D6C a través de un parlante SONY SRS - A37, el cual fue colocado a una distancia entre 35 y 70 cm del macho vocalizante. El volumen del parlante se calibró utilizando un sonómetro ROLINC RO - 1350 a partir de mediciones realizadas a machos en el campo (Tabla 1).

Cada experimento de *playback* consistió en cuatro fases de 2 min cada una. En la fase uno (antes) se presentó al individuo focal el parlante sin estímulo sonoro; en la fase dos (durante) se añadió como estímulo la llamada sintética experimental; en la tres (después) se volvió a suprimir el estímulo sonoro y en la cuatro (control), se utilizó una llamada sintética que presentaba, tanto en sus características temporales como espectrales, los valores promedio para la población. Cada estímulo sintético estuvo compuesto por una serie de 10 llamadas separadas entre sí por intervalos silenciosos de 10 s. En cada una de las fases se

medió en el individuo focal el número de cantos producidos, el número de notas en cada llamada, el número de reorientaciones, el número de saltos y la distancia inicial y final al parlante. Luego de capturar al individuo para obtener las medidas de peso y S.V.L. se midió la temperatura en el punto donde el macho se había encontrado cantando. Aquellos experimentos en donde no hubo respuesta en la fase 2 (durante) y tampoco en la 4 (control), no se incluyeron en los análisis.

Tabla 1: Valores de intensidad de la llamada de advertencia de *E. boulengeri* medida para 10 machos que se encontraron cantando en el campo.

Individuo	Distancia (cm)	Intensidad (dB SPL-re 20 μPa)
1	46	82.3
2	51	85.0
3	52	84.7
4	50	83.3
5	50	85.5
6	52	86.3
7	51	82.0
8	48	81.9
9	53	81.3
10	47	83.8

Análisis estadísticos

El acercamiento al parlante se trató como una variable binaria estableciendo un área alrededor del parlante de 15 cm de radio y considerando a los individuos que entraron dentro de este perímetro como respuestas fonotácticas positivas. Con la técnica gráfica exploratoria *Lowess* se observó la variación en la probabilidad de respuestas positivas a lo largo de un rango de frecuencias bastante amplio (de-11 a + 10 desviaciones estándar alrededor de la frecuencia dominante promedio de la llamada de advertencia). Con esto se quiso garantizar la inclusión de la mayoría de las frecuencias a las cuales los machos de *E.*

boulengeri potencialmente responden, aun cuando tales frecuencias no sean las de mayor energía en el canto de esta especie. Para hacer una comparación entre las frecuencias utilizadas por los emisores y aquellas que aumentan la probabilidad de respuesta de los receptores, se ajustó la respuesta de acercamiento a un modelo logístico. En este modelo se incluyeron como variables de entrada: i) La diferencia de la frecuencia estímulo con respecto a la frecuencia dominante promedio de la llamada de advertencia de *E. boulengeri*. ii) El signo de dicha diferencia (por encima, + o por debajo, - del promedio. iii) La distancia inicial a la que se colocó el parlante.

Para detectar diferencias entre las diferentes fases experimentales en cuanto al número de llamadas, notas, saltos y reorientaciones se aplicó la prueba de Friedman. Puesto que el número de notas no siempre fue el mismo en cada llamada de un mismo individuo, se escogió la moda del número de notas en cada fase para aplicar la prueba de Friedman.

RESULTADOS

Descripción de la llamada

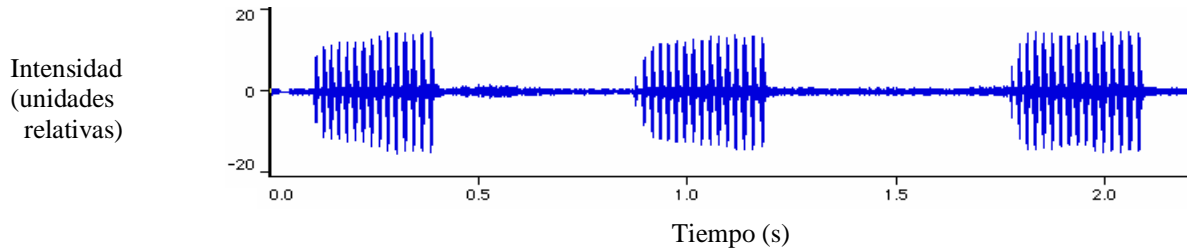
La llamada de *E. boulengeri* es un canto pulsado que presenta un promedio de 3 ± 0.85 (d.e.) notas, separadas por un intervalo silencioso de $0.475 \text{ s} \pm 0.123 \text{ s}$ (d.s.). Cada nota está compuesta por 13 ± 2.98 (d.e.) pulsos separados por silencios de $0.014 \text{ s} \pm 0.002 \text{ s}$ (d.s.). Cada pulso tiene una duración de $0.006 \text{ s} \pm 0.00197 \text{ s}$ (d.s.). La frecuencia dominante varió inter-individualmente entre 4.337 y 5.045 kHz con $\bar{x} = 4.796 \text{ kHz} \pm 163.46 \text{ kHz}$ (d.s.) (Fig. 1). La frecuencia no estuvo relacionada con el tamaño ni el peso de los individuos. La temperatura tampoco tuvo un efecto en la frecuencia dominante de la llamada de advertencia de *E. boulengeri*.

Acercamiento al parlante

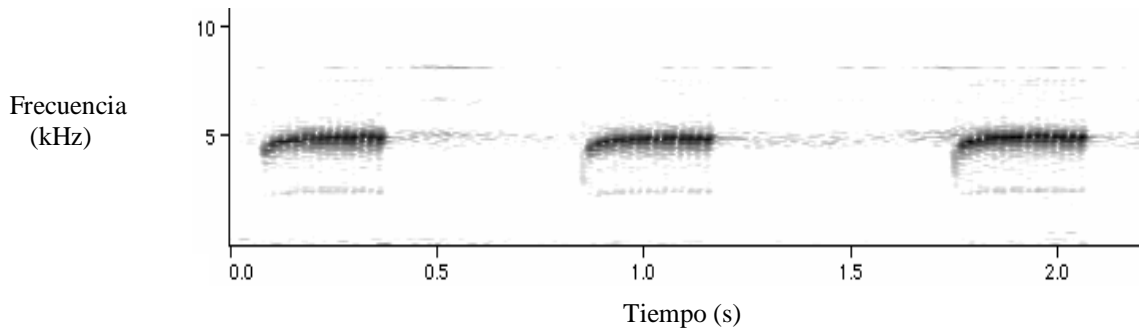
A través del análisis gráfico exploratorio se observa que las respuestas positivas se concentran alrededor de la frecuencia dominante y que desaparecen cuando se alcanzan

frecuencias mayores a 5.5 kHz. En la región de frecuencias menores a la frecuencia dominante las respuestas positivas no desaparecen del todo hasta llegar a 3 kHz.

a.



b.



c.

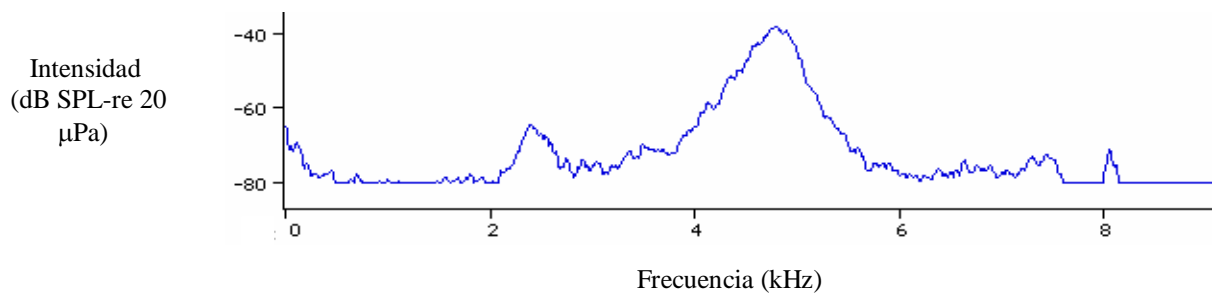


Fig. 1: a) Oscilograma de una llamada de advertencia típica de *Epipedobates boulengeri* en Gorgona, Colombia. Cada una de las 3 notas está compuesta por 13 pulsos en promedio. b) Sonograma de la misma llamada en donde se observa que la frecuencia dominante está alrededor de 4.8 kHz y la frecuencia fundamental en 2.4 kHz. c) Espectrograma de la segunda nota de la misma llamada, en donde aparece tanto la frecuencia dominante como la fundamental.

Se evidenció una segunda concentración de respuestas de acercamiento en frecuencias cercanas a 3.4 kHz (Fig. 2).

Ajuste de frecuencias entre emisores y receptores

Se encontró que para *E. bouleengeri* una curva logística describe bastante bien la probabilidad de respuesta de acercamiento en relación con la frecuencia de la llamada estímulo (Tablas 2).

Tabla 2: Estadísticos del modelo de regresión logística aplicado a la respuesta fonotáctica de los machos de *E. bouleengeri* considerando estímulos correspondientes al rango entre -11 y +10 desviaciones estándar de la frecuencia dominante promedio de la llamada de advertencia. Las variables que afectaron el modelo logístico fueron la desviación a partir de la frecuencia promedio y la desviación por el signo. El signo y la distancia del parlante fueron variables que no tuvieron efecto en el modelo.

VARIABLES EN LA ECUACIÓN

Variable	Cambio en $-2 \log$ de la verisimilitud	gl	sig. del cambio
Desviación de la frecuencia promedio	9.636	1	0.002
Desviación de la frecuencia promedio por signo de la desviación	5.454	1	0.020

VARIABLES NO ADMITIDAS EN LA ECUACIÓN

Variable	Puntuación	gl	sig.
Signo de la desviación	2.270	1	0.132
Distancia inicial al parlante	0.576	1	0.448
Estadísticos globales	2.521	2	0.283

El hecho de que al aplicar la regresión logística, la desviación por el signo entrara en el modelo, sugiere una diferencia en la pendiente a los dos lados de la curva (Fig. 3). La distancia del parlante no afectó la probabilidad de respuesta de los machos focales, lo que sugiere que se utilizaron siempre distancias comparables.

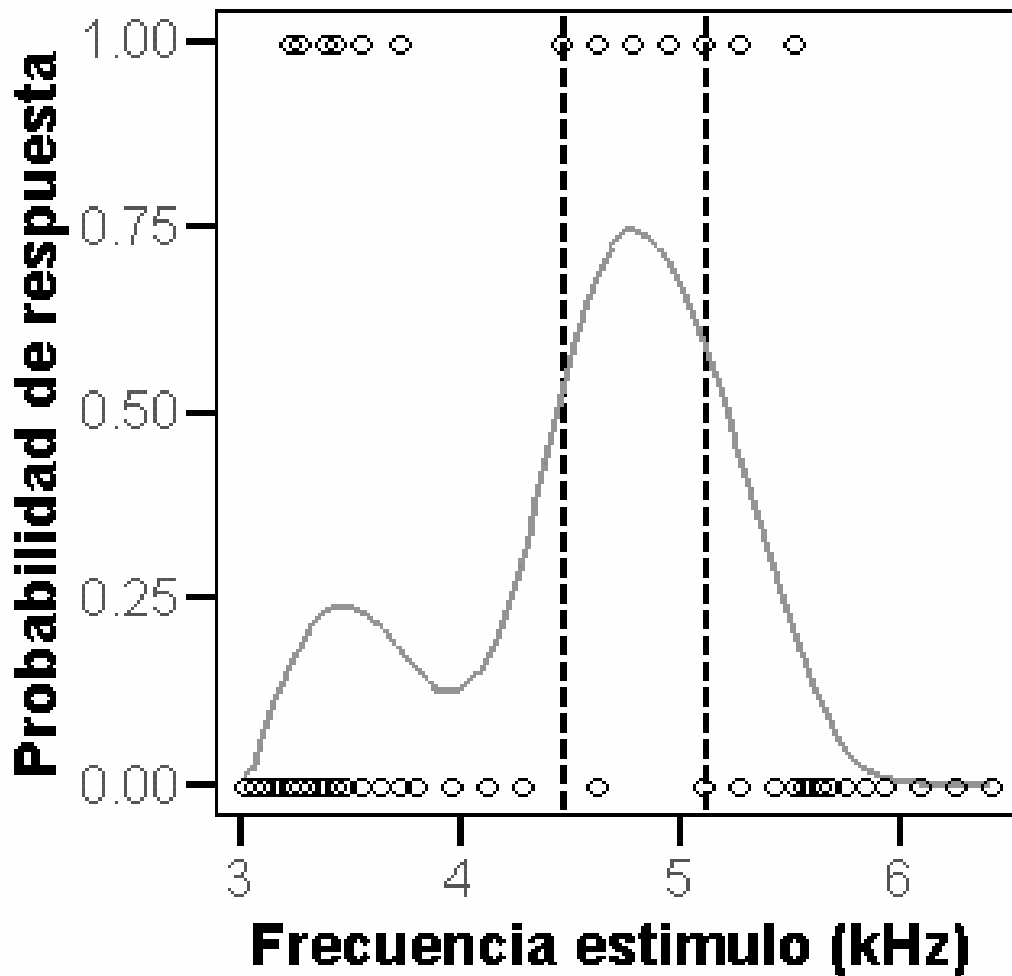


Fig. 2: Curva de probabilidad inferida de la respuesta de los machos de *E. boulegeri* en los experimentos de *playback*, cuando la variable acercarse a 15 cm o menos del parlante es tratada como una variable binomial. Los individuos que llegaron hasta esta distancia aparecen en la parte superior de la gráfica (Probabilidad = 1) mientras que aquellos que no lo hicieron están en la parte inferior (Probabilidad = 0). La curva representa la tendencia general de los datos a lo largo del espectro. Las líneas verticales marcan el rango entre -2 y +2 desviaciones estándar a partir de la frecuencia dominante promedio de la llamada de advertencia calculada para la población de estudio.

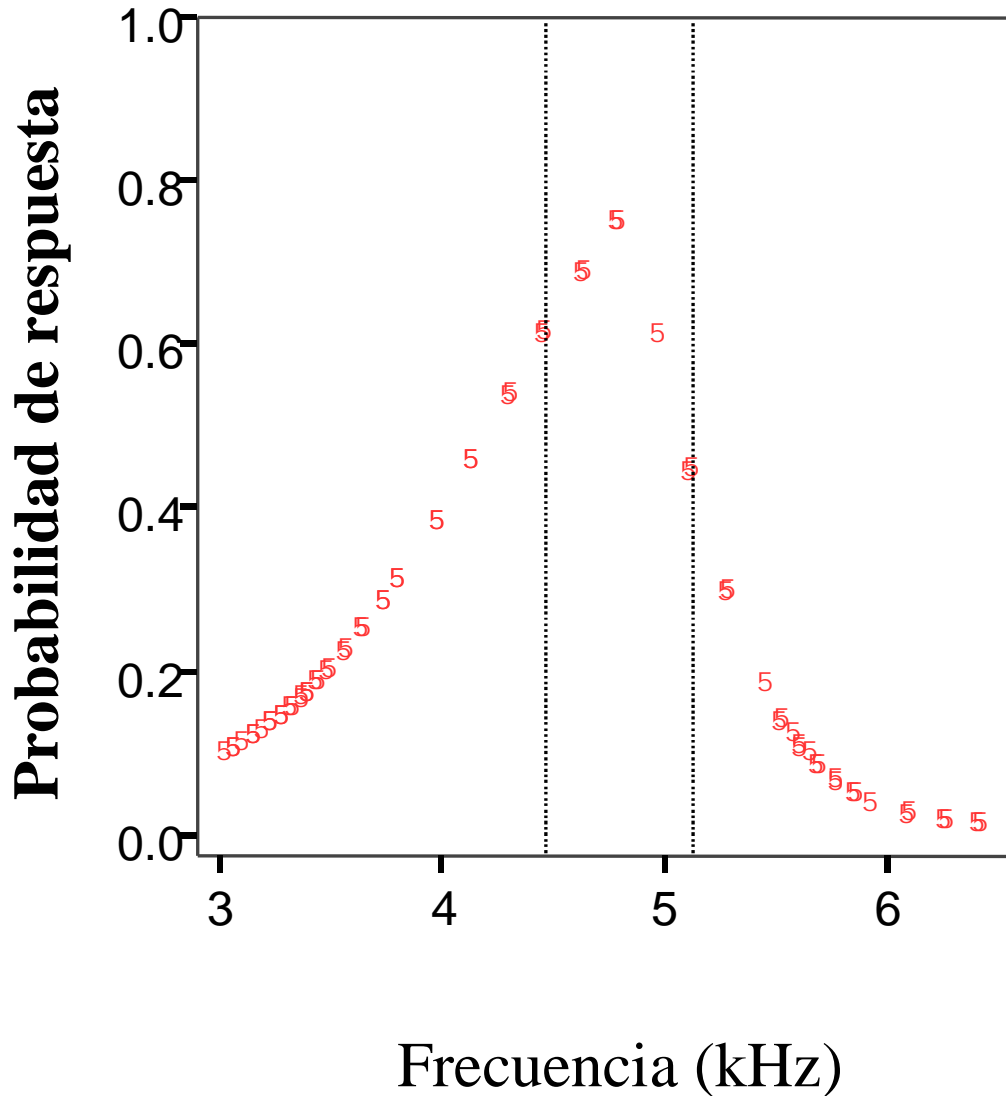


Fig. 3: Valores predichos de probabilidad de respuesta fonotáctica de *E. boulengeri* ante estímulos acústicos que difieren en frecuencia, según el modelo logístico aplicado a los resultados obtenidos en los experimentos de *playback*. Las líneas verticales marcan el rango entre -2 y +2 desviaciones estándar a partir de la frecuencia dominante promedio de la llamada de advertencia de *E. boulengeri* (4.8 kHz). El modelo se aplicó entre -11 y +10 desviaciones estándar alrededor de este valor.

Saltos, reorientaciones y llamadas

Tanto el número de saltos como el de reorientaciones aumentaron como consecuencia del estímulo del *playback* (Saltos: Chi-cuadrado = 10.398, P = 0.006, N = 66; Reorientaciones: Chi-cuadrado = 20.215, P < 0.001, N = 66). Ambos comportamientos tuvieron una relación parecida con la frecuencia: el número de saltos y reorientaciones evocadas disminuyó sustancialmente entre 4 y 6 desviaciones estándar por encima de la frecuencia dominante (5.45 y 5.77 kHz). Por el contrario, ante estímulos por debajo de la frecuencia dominante, el número de saltos y reorientaciones evocados no se redujo de forma significativa, hasta llegar a estímulos correspondientes a 11 desviaciones estándar. Entre 8 y 10 desviaciones estándar por debajo de la frecuencia dominante (3.49 y 3.13 kHz), la respuesta se intensificó. El número de llamadas descendió como resultado del tratamiento pero tal efecto no tuvo una relación clara con la frecuencia de las llamadas sintéticas (Fig. 4). El número de notas por llamada no se vio afectado por el tratamiento en los ensayos de *playback* ni se encontró relacionado con la temperatura.

DISCUSION:

Las respuestas comportamentales más comunes de los machos en los experimentos de *playback* pueden ser clasificadas como respuestas vocales (Sullivan, 1985) y respuestas de fonotaxis (Klump, 1995). En las primeras encontramos como posibles respuestas la supresión del canto, el cambio de llamada y/o el cambio en alguna o algunas de las características tanto temporales como espectrales del canto. Por su parte, dentro de las respuestas de fonotaxis están la reorientación hacia la fuente de sonido y el acercamiento a dicha fuente. Debido a que acercarse hacia el macho invasor seguramente es un comportamiento que se expresa en un estado avanzado del escalamiento agonístico, consideramos que es una buena medida del reconocimiento del sonido estímulo como una señal intraespecífica y que es la mejor variable comportamental para probar el ajuste en frecuencia entre emisores y receptores. El criterio de los 15 cm para definir las respuestas

positivas en este sentido se escogió porque fue evidente que aquellos machos que llegaron a lo acústico, ya que por lo general avanzaron en

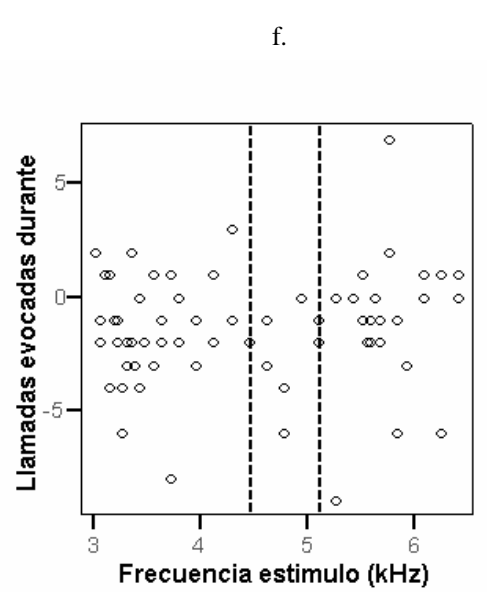
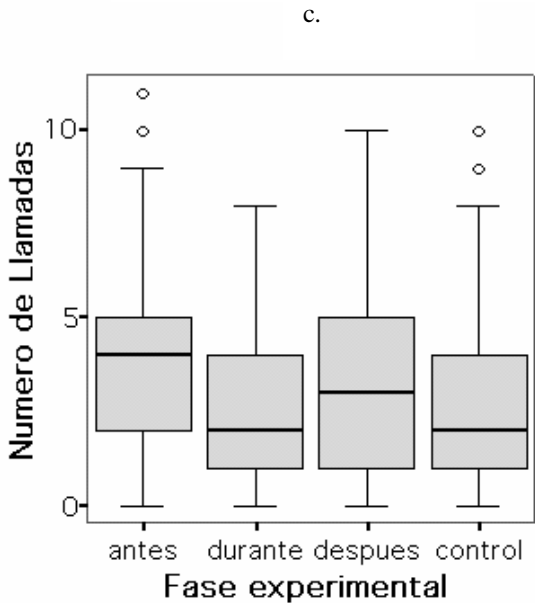
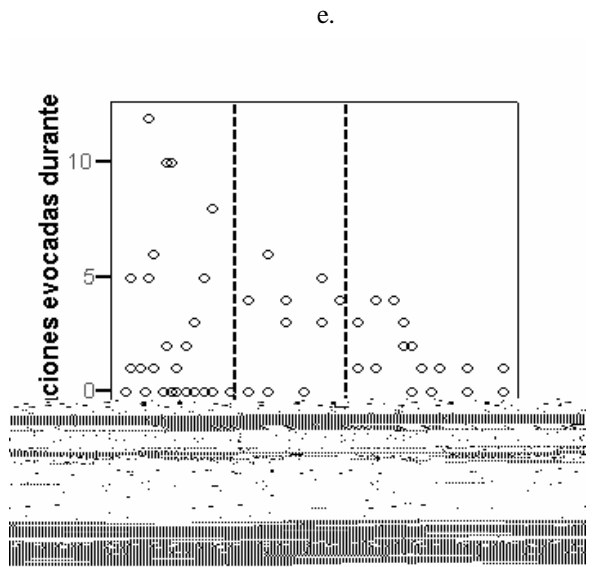
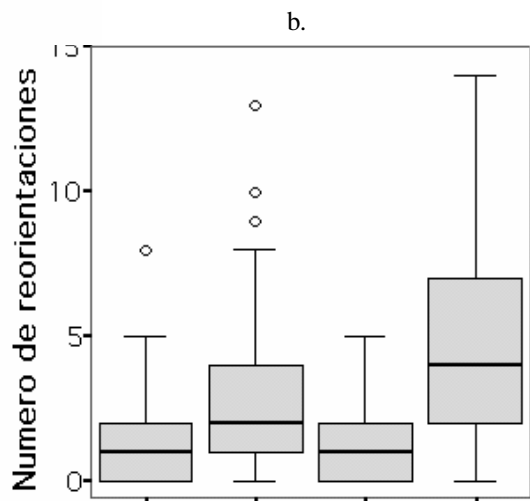
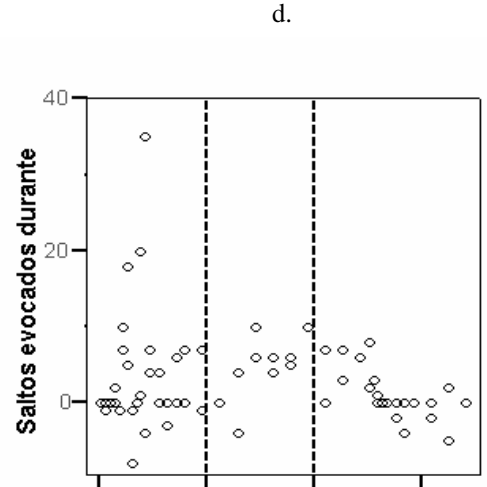
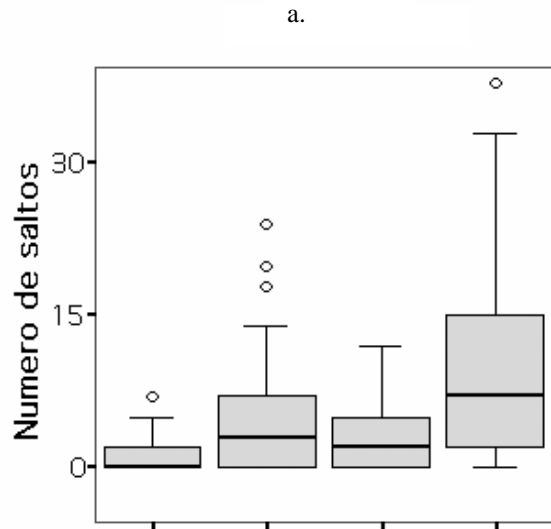


Fig. 4: Respuestas comportamentales de los machos de *E. Boulengeri* en los experimentos de *playback*. Diagrama de cajas del número de a) saltos, b) reorientaciones, c) llamadas realizadas por los individuos focales en cada fase del experimento. *Antes:* se colocó el parlante (sin estímulo sonoro) cerca del macho focal. *Durante:* se reprodujo una llamada de advertencia sintética de *E. boulengeri* donde se manipuló la frecuencia dominante. Esta llamada fue el estímulo tratamiento. *Después:* se detuvo el estímulo sonoro y quedó nuevamente el parlante como único estímulo. *Control:* se reprodujo una llamada de advertencia sintética de *E. boulengeri* que mantuvo, tanto en sus patrones temporales como en las características espectrales los valores promedio calculados para la población, los círculos blancos en estas figuras representan valores atípico. La relación de la frecuencia con los diferentes comportamientos se calculó como el número de comportamientos “durante” menos el número de comportamientos “antes”. El efecto del tratamiento está representado por las variables d) “saltos evocados durante”, e) “reorientaciones durante” y f) “llamadas evocadas durante”.

línea recta hacia el parlante, concentrando sus saltos en los momentos donde el estímulo sintético se hacía presente y deteniéndose durante los 10 s del intervalo de silencio. Además, es probable que en este tipo de experimentos las ranas tengan dificultades en localizar la posición exacta de la fuente de sonido cuando están muy cerca de ella (Gerhardt, 1980; Passmore et al., 1984). Lo anterior, debido a que la intensidad con la que reciben el estímulo en cada uno de sus oídos es muy similar. En la situación natural esto se resuelve utilizando pistas visuales para finalmente llegar a la posición del otro macho.

El hecho de que el rango de mayor probabilidad de respuesta haya coincidido con el rango de distribución de la frecuencia dominante de la llamada de advertencia de *E. boulengeri*, evidencia que el ajuste en frecuencia entre emisores y receptores se expresa en el comportamiento agonístico de los machos de esta población. Tal situación parece apoyar la idea de una posible sintonización entre la papila basilar y la frecuencia dominante de la llamada de advertencia. Sin embargo el análisis exploratorio muestra un segundo rango de frecuencia donde la probabilidad de respuesta vuelve a aumentar.

Sobre este punto se deben contemplar dos posibilidades. En primer lugar la aparición de esta segunda zona de mayor probabilidad de respuesta puede estar relacionada con la existencia de energía producida en una más baja frecuencia (un armónico) que la frecuencia

dominante de la llamada de advertencia de *E. boulengeri*, alrededor de 2.4 kHz. Esta frecuencia aunque no sea la de mayor energía en la señal, puede estar cumpliendo alguna función en la comunicación. En algunos casos se ha mostrado que la intensidad relativa de los diferentes armónicos dentro de las señales acústicas, pueden dar información de la distancia a la que se encuentran los emisores (Gerhardt, 1981). Lo anterior porque sonidos de diferente frecuencia presentan diferentes patrones de degradación en el medio: sonidos de alta frecuencia se degradan más rápidamente que sonidos de menor frecuencia (Forrest, 1994). Por esta razón, es probable que los sistemas sensoriales de *E. boulengeri* además de estar sintonizados con la frecuencia dominante de su llamada de advertencia, posean mecanismos que les permitan utilizar la información que potencialmente estaría ofreciendo un armónico de más baja frecuencia. La existencia de un sistema sensorial bimodal sintonizado con los diferentes armónicos de la llamada ha sido demostrado anteriormente. Sin embargo, que dicha bimodalidad se exprese comportamentalmente sería algo novedoso. No obstante la cuestión de si el segundo pico coincide con la frecuencia fundamental o está en alguna medida desajustado con respecto a ésta, queda sin resolver en este trabajo.

La segunda posibilidad que no se puede descartar es que el doble pico en el análisis exploratorio no sea evidencia de un patrón bimodal. Si se aplica el mismo análisis gráfico ampliando el criterio de acercamiento a 20, 25 y 30 cm de radio alrededor del parlante, la brecha entre los dos picos de máxima probabilidad de respuesta se va reduciendo y aparece progresivamente, un patrón cada vez más parecido al que se observa cuando la variable de respuesta se maneja en términos de saltos y reorientaciones.

Todo esto plantea la cuestión de si la respuesta de *E. boulengeri* se expresa en un patrón bimodal, en donde el rango de mayor probabilidad de respuesta está bastante ajustado con la frecuencia dominante de su llamada de advertencia, o si por el contrario, la amplitud de la curva de probabilidad de respuesta está bastante desajustada con respecto a la distribución de la frecuencia dominante de la llamada de advertencia, mostrando un desplazamiento considerable hacia frecuencias bajas. Para tomar una decisión en este sentido se debe considerar la variable que se mide como respuesta comportamental. En este caso acercarse a 15 cm o menos del parlante es un criterio de respuesta conservador, donde se define como

respuesta positiva percibir, localizar y encontrar la fuente de sonido. Bajo estos términos la respuesta de los machos de *E. boulengeri* efectivamente presenta un patrón bimodal y un ajuste bastante fino entre la frecuencia dominante de la llamada de advertencia y aquellas que elicitan con mayor probabilidad este comportamiento. Respuestas mucho más amplias son saltar y reorientarse, donde el criterio de identificación de un sonido como una señal intraespecífica es mucho menos definido. Por ser variables fonotácticas menos finas se debe esperar que su relación con la frecuencia del estímulo también presente un patrón menos ajustado.

Algunos patrones bimodales en el sistema auditivo de los anuros involucran la papila amphibiorum cuya mejor frecuencia excitatoria puede estar sintonizada con las frecuencias más bajas de la llamada de advertencia (Zakon & Wilczynski, 1988). Este no parece ser el caso de *E. boulengeri* pues su armónico de baja frecuencia está muy por encima de aquellas frecuencias a las cuales es sensible la papila amphibiorum. Para muchas especies se ha mostrado que el rango de sensibilidad de la papila amphibiorum no supera los 1.000 Hz. (Wilczynski & McClelland, 1993) aunque no hay muchos estudios que calculen la sintonización de esta papila en especies pequeñas.

El hecho de que en esta población se encontrara un buen ajuste espectral entre señal y respuesta es contradictorio con la aparente ausencia de competencia por el espacio acústico en la isla. Esto puede deberse a que tal ausencia sea sólo una impresión, ya que hasta ahora no existen estudios que cuantifiquen el ambiente acústico en Gorgona, pues aunque solo conviven dos especies de anuros diurnos en la isla, es probable que otras especies, insectos por ejemplo, se comuniquen utilizando frecuencias parecidas a las de la llamada de advertencia de *E. boulengeri*. A pesar de esto existen otras posibilidades más interesantes a considerar. Este ajuste puede ser una condición ancestral que evolucionó antes de la separación de la isla hace tan solo 17.000 años, cuando el final de la última glaciación provocó un aumento en el nivel del mar. Estudios que muestren qué tan complejas son las comunidades de anuros a las que pertenece *E. boulengeri* en el continente, serían bastante oportunos para ahondar en esta discusión.

Los patrones observados en las respuestas de saltos y reorientaciones, podrían estar sugiriendo que efectivamente las presiones por responder agonísticamente a rangos de frecuencia estrechos están relajadas. En este caso los machos detectarían sonidos fuera del rango de variación natural de su canto, a los cuales responderían reorientándose y saltando hacia la fuente del sonido aunque no pudiesen localizarla de forma eficiente. Estos comportamientos podrían expresarse en los experimentos de *playback* al no existir en las condiciones naturales situaciones donde este tipo de respuestas sean negativamente seleccionadas.

La aparición de un ajuste entre características de las señales acústicas y la fisiología del sistema auditivo conduce a la pregunta sobre el orden cronológico de la evolución de tal correlación. Es probable que los patrones de sensibilidad en los sistemas sensoriales existan desde antes de la aparición de las señales. En este caso los emisores estarían explotando un sesgo sensorial en los receptores, que favorecería señales que estimulen mejor sus sistemas sensoriales. Este parece ser el caso de algunos sistemas de comunicación (Searcy, 1986; Ryan, 1993) aunque no se debe tomar como el modelo general. Existen escenarios que sugieren una evolución de las características de las señales principalmente bajo presiones impuestas por el ambiente físico, siendo éstas las que favorecen aquellas que resuelvan mejor los problemas de degradación (Richards & Wiley, 1980). En este caso no serían los emisores los que evolucionarían señales a partir de las características de los sistemas sensoriales de los emisores, sino serían estos últimos los que adaptarían sus sistemas a las características de las llamadas. En cualquier caso se debe tener en cuenta que la evolución de las señales puede estar limitada por restricciones filogenéticas (Cocroft & Ryan, 1995).

Un ajuste fino de frecuencia entre emisores y receptores pudo haber evolucionado independientemente de las presiones relacionadas con el reconocimiento de especie y la competencia por el espacio acústico. Es probable una correlación genética entre sistemas de producción y percepción de señales, lo que llevaría a una coincidencia entre las frecuencias producidas y más fácilmente percibidas dentro de una misma especie (Kirkpatrick & Ryan, 1991). Es probable que este sea el mecanismo que subyace en aquellas especies donde se observa apareamiento asociativo por tamaño.

Con respecto al número de llamadas emitidas por los machos focales en los experimentos *deplaybak* se encontró que dicho número disminuyó como efecto del tratamiento, y aunque tal disminución no tuvo ningún tipo de relación con la frecuencia, es interesante porque sugiere que los individuos sí percibieron los estímulos aunque muchos no los hubieran motivado a responder fonotácticamente. Esto indica que el rango de frecuencia dentro del cual estuvieron los cantos sintéticos estuvo dentro del rango de percepción de *E. boulengeri*. Por su parte, el número de notas por llamada aunque variable, se mantuvo constante dentro de un mismo individuo en todas las fases del experimento. Esto sugiere que depende más de características intrínsecas de los individuos y que es poco flexible en las interacciones entre machos. Experimentos con hembras serían interesantes para determinar si esta característica está sujeta a algún tipo de selección sexual o si funciona como algún tipo de indicador honesto de la condición física de los machos.

La población de *E. boulengeri* en Gorgona es un caso particular debido a su aislamiento, su alta densidad y por el bajo número de especies con las que comparte su espacio acústico, aún así su sistema de comunicación sigue funcionando dentro de un rango de frecuencias estrecho y ajustado a su frecuencia dominante, esto sugiere que dentro de la evolución de dicho ajuste además de las presiones relacionadas con la competencia por el espacio acústico seguramente están involucrados otros factores que mantienen dicho ajuste en esta población. El generar y poner a prueba nuevas hipótesis al respecto es una tarea necesaria para avanzar en el entendimiento de los sistemas de comunicación acústica de los anuros.

REFERENCIAS:

- Backwell, P. and Jennions, M. 1993. Mate choice in the neotropical frog, *Hyla ebraccata*: sexual selection, mate recognition and signal selection. *Anim. Behav.* 45: 1248-1250.
- Bosch, J. and R. Márquez. 1996. Acoustic competition in male midwife toads *Alytes obstetricans* and *Alytes cisternasii*: response to neighbor size and calling rate. Implications for female choice. *Ethology* 102: 841-855.
- Capranica, R. 1992. Untuning of the tuning curve: is it time? *Seminars in the Neurosciences*. 4: 401-408.
- Cocroft, R. and Ryan, M. 1995. Patterns of advertisement call evolution in toads and chorus frogs. *Anim. Behav.* 49: 283-303.

- Diekamp, B. and Gerhardt, H. 1995. Selective phonotaxis to advertisement calls in the gray treefrog *Hyla versicolor*: behavioral experiments and neurophysiological correlates. *J. Comp. Physiol. A* 177: 173-190.
- Forrest, T. 1994. From sender to receiver: propagation and environmental effects on acoustic signals. *Am. Zool.* 34: 644-654.
- Gerhardt, H. 1980. Accuracy of sound localization in a miniature dendrobatid frog. *Naturwissenschaften* 67: 362-363.
- Gerhardt, H. 1981. Mating call recognition in the green treefrog (*Hyla cinerea*): importance of two frequency bands as a function of sound pressure level. *J. Comp. Physiol.* 144: 9-16.
- Gerhardt, H. 1987. Evolutionary and neurobiological implications of selective phonotaxis in the green treefrog, *Hyla cinerea*. *Anim. Behav.* 35: 1479-1489.
- Gerhardt, H. 1988. Acoustic properties used in call recognition by frogs and toads. in B. Fritsch, M. J. Ryan, W. Wilczynski, T. E. Hetherington and W. Walkowiak (ed.), *The evolution of the amphibian auditory system*. John_ Wiley & Sons. New York.
- Gerhardt, H. 1994. The evolution of vocalization in frogs and toads. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 25: 293-324.
- Gerhardt, H. and Schul, J. 1999. A quantitative analysis of behavioral selectivity for pulse rise-time in the gray treefrog, *Hyla versicolor*. *J. Comp. Physiol. A* 185: 33-40.
- Gerhardt, H. and Schwartz, J. 2001. Auditory tuning and frequency preferences in anurans. In: *Anuran communication*. Edited by Michael J. Ryan. Smithsonian institutin press. Washington and London.
- Gerhardt, H. and Huber, F. 2002. *Acoustic communication in insects and anurans*. The University of Chicago Press. 2002. Chicago.
- Given, M. 1987. Vocalizations and acoustic interactions of the Carpenter frog, *Rana virgatipes*. *Herpetologica* 43: 467-481.
- Grafe, T. 1996. The function of call alternation in the African reed frog (*Hyperolius marmoratus*): precise call timing prevents auditory masking. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 38: 149-158.
- Hall, J. 1994. Central processing of communication sounds in the anuran auditory system. *Amer. Zool.* 34: 670-684.
- Jaslow, A. and Lombard, R. 1996. Hearing in the neotropical frog, *Atelopus chiriquiensis*. *Copeia* 1996: 428-432.
- Keddy-Hector, A. and Wilczynski, W. 1992. Call patterns and basilar papilla tuning in cricket frogs. II. Intrapopulation variation and allometry. *Brain Behav. Evol.* 39: 238-246.
- Klump, G. 1995. Studying sound localization in frogs with behavioral methods. Pp : 221-233 in G. M. Klump, R. J. Dooling, R. R. Fay and W. C. Stebbins (ed.), *Methods in comparative psychoacoustics*. Birkhäuser Verlag. Basel.
- Lopez, P. and Narins, P. 1991. Mate choice in the neotropical frog, *Eleutherodactylus coqui*. *Anim. Behav.* 41: 757-772.
- Loftus-Hills, J. and Littlejohn, M. 1971. Pulse repetition rate as the basis for mating call discrimination by two sympatric species of *Hyla*. *Copeia* 1971: 154-156.
- Mac Nally, R. 1984. On the reproductive energetics of chorusing males: costs and patterns of call production in two sympatric species of *Ranidella* (Anura). *Oikos* 42: 82-91.
- Narins, P. and Zelick, R. 1988. The effects of noise on auditory processing and behavior in amphibians. Pp : 511-536 in B. Fritsch, M. J. Ryan, W. Wilczynski, T. E.

- Hetherington and W. Walkowiak (ed.), The evolution of the amphibian auditory system. John Wiley & Sons. New York.
- Narins, P. 1992. Evolution of anuran chorus behavior: neural and behavioral constraints. *Am. Nat.* 139: S90-S104.
- Narins, P. 1995. Frog communication. *Sci. Am.* 1995: 62-67.
- Narins, P., Hodl, W. and Grabul, D. 2003. Bimodal signal requisite for agonistic behavior in a dart-poison frog, *Epipedobates femoralis*. *PNAS* 100: 577-580.
- Otter, K., Chruszcz, B. and Ratcliffe, L. 1997. Honest advertisement and song output during the dawn chorus of black-capped chickadees. *Behav. Ecol.* 8: 167-173.
- Passmore, N., Capranica, R., Telford, S. and Bishop, P. 1984. Phonotaxis in the painted reed frog (*Hyperolius marmoratus*): the localization of elevated sound sources. *J. Comp. Physiol. A* 154: 189-197.
- Penna, M. and Solís, R. 1998. Frog call intensities and sound propagation in the South American temperate forest region. *Behav. Ecol. Sociobiol.*: 1-11.
- Richards, D. and Wiley, R. 1980. Reverberations and amplitude fluctuations in the propagation of sounds in a forest: implications for animals communication. *Am. Nat.* 115: 381-399.
- Ryan, M. and Wilczynski, W. 1988. Coevolution of sender and receiver: effect on local mate preference in cricket frogs. *Science* 240: 1786-1787.
- Ryan, M., Fox, J., Wilczynski, W. and Rand, A. 1990. Sexual selection for sensory exploitation in the frog *Physalaemus pustulosus*. *Nature* 343: 66-67.
- Ryan, M. Perrill, A. 1992. Auditory tuning and call frequency predict population-based mating preferences in the cricket frog, *Acris crepitans*. *Am. Nat.* 139: 1370-1383.
- Ryan, M. and Keddy-Hector, A. 1992. Directional patterns of female mate choice and the role of sensory biases. *Am. Nat.* 139: S4-S35.
- Ryan, M. 1993. Species recognition and sexual selection as a unitary problem in animal communication. *Evolution.* 47: 647-657.
- Schneichel, W. and Schneider, H. 1988. Hearing and calls of the banana frog, *Afraxalus fornasinii* (Bianconi) (Anura: Rhacophoridae). *Amph.-Rept.* 9: 251-264.
- Schwartz, J. 1987. The importance of spectral and temporal properties in species and call recognition in a neotropical treefrog with a complex vocal repertoire. *Anim. Behav.* 35: 340-347.
- Schwartz, J. 1987. The importance of spectral and temporal properties in species and call recognition in a neotropical treefrog with a complex vocal repertoire. *Anim. Behav.* 35: 340-347.
- Schwartz, J. and Gerhardt, H. 1998. The neuroethology of frequency preferences in the spring peeper. *Anim. Behav.* 56: 55-69.
- Searcy, W. 1986. Sexual selection and the evolution of sons. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 17:507-533.
- Sullivan, B. 1985. Male calling behavior in response to playback of conspecifics advertisement calls in two bufonids. *J. Herpetol.* 19: 78-83.
- Sullivan, B. 1989. Interpopulational variation in vocalizations of *Bufo woodhousii*. *J. Herpetol.* 23: 368-373.
- Von Pral, H., Guhl, F. and Grogl, M. 1979. Gorgona. Futura Grupo Editorial Ltda. Bogotá, Colombia.

- Walkowiak, W. 1988. Neuroethology of anuran call recognition. Pp : 485-509 in B. Fritsch, M. J. Ryan, W. Wilczynski, T. E. Hetherington and W. Walkowiak (ed.), The evolution of the amphibian auditory system. John Wiley & Sons. New York.
- Wells, K. and Schwartz, J. 1982. The effect of vegetation on the propagation of calls in the neotropical frog *Centrolenella fleischmanni*. *Herpetologica* 38: 449-455.
- Wilczynski, W. and Ryan, M. 1999. Geographic variation in animal communication systems In S. A. Foster and J. A. Endler. Geographic variation in behavior New York, Oxford University Press: 234-261.
- Wilkinson, G. 1994. Canary 1.1: sound analysis software for Macintosh computers. *Bioacoustics* 5: 227-241.
- Zakon, HH. And Wilczynski, W. 1988. The physiology of the anuran eighth nerve. in B. Fritsch, M. J. Ryan, W. Wilczynski, T. E. Hetherington and W. Walkowiak (ed.), The evolution of the amphibian auditory system. John_ Wiley & Sons. New York.
- Zelick, R. and Narins, P. 1982. Analysis of acoustically evoked call supression behaviour in a neotropical treefrog. *Anim. Behav.* 30: 728-733.