

XIII Congreso Argentino de Acústica
VII Jornadas de Acústica, Electroacústica y Áreas Vinculadas

Buenos Aires, 29 y 30 de octubre de 2015

AdAA2015-A022

Bioacústica de anuros:
Medición de sonidos emitidos por larvas

Nilda Vechiatti^(a)
Federico Iasi^(a)
Carlos Posse^(a)
Carolina Salgado Costa^(b)
Guillermo Natale^(b)

^(a) Laboratorio de Acústica y Luminotecnia de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, Camino Centenario y Calle 506, 1897 Manuel B. Gonnet, Provincia de Buenos Aires. E-mail: ciclal@gba.gob.ar

^(b) Centro de Investigaciones del Medio Ambiente (CIMA), Departamento de Química, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, Calle 47 esq. 115, 1900 La Plata, Prov. de Buenos Aires, Argentina. CONICET. E-mail: csalgadocosta@quimica.unlp.edu.ar; gnatale@quimica.unlp.edu.ar

Abstract

In order to characterize sounds produced by anuran larvae, it was necessary to establish a method of joint work carried out by Biologists from the CIMA Centre and Engineers from the LAL-CIC Laboratory. The process consisted in the selection of larvae with different development stages, measurements and recordings in anechoic chamber, improvement of signal to noise ratio of the recordings and selection of the most appropriate acoustic parameters. In this paper are presented the procedure and analyses performed.

Resumen

Con el objetivo de caracterizar acústicamente sonidos emitidos por larvas de anuros, resultó necesario establecer un método de trabajo conjunto llevado a cabo por Biólogos del CIMA-UNLP e Ingenieros del Laboratorio LAL-CIC. El proceso consistió en: seleccionar larvas en diferentes estadios de desarrollo, realizar mediciones y grabaciones en cámara anecoica, mejorar la relación señal-ruido de los registros y seleccionar los parámetros acústicos más adecuados. En este trabajo se presenta el procedimiento seguido y los análisis realizados.

1 Introducción

En 2011 Investigadores del CIMA, Facultad de Ciencias Exactas, UNLP, descubrieron que las larvas de *Ceratophrys ornata* poseían la capacidad de emitir sonidos (Natale et al, 2011). Dicho hallazgo proporcionó la primera evidencia de que larvas de anuros emiten un sonido adentro del agua, lo cual constituiría un modo de comunicación y reconocimiento intra-específico para esta especie.

La necesidad de caracterizar estos sonidos con el fin de darlo a conocer, y profundizar estudios sobre la posible función biológica de los mismos, dio lugar a la formación de un grupo de trabajo interdisciplinario entre ambos laboratorios, iniciándose una línea de investigación en el campo de la Bioacústica.

En la primera etapa se debió investigar el mejor modo de medir y caracterizar sonidos de muy bajo nivel. En este trabajo se presenta el procedimiento seguido, el que podría ser aplicado en otros casos de baja relación señal-ruido, así como los resultados obtenidos.

2 Procedimiento de medición y registro

Si bien las larvas emiten sonidos adentro del agua, también los emiten cuando se los retira del agua, por una cuestión práctica se comenzó la investigación a partir de registros de sonidos emitidos fuera del agua.

Cabe aclarar que en lo referido a la experimentación con animales de laboratorio, se contemplaron las recomendaciones establecidas en distintos protocolos internacionales sobre buenas prácticas de laboratorio (CCAC Guide, 1993).

Para la caracterización de estos sonidos se recurrió a la medición de espectros y de parámetros acústicos globales, y a la determinación de parámetros descriptores obtenidos a partir del análisis temporal y espectral de la señal registrada digitalmente. Se realizaron mediciones con un analizador de espectros en tiempo real (B&K 2250), y grabaciones en archivos .WAV a partir de la señal de salida de línea alterna del sonómetro, la que se registró en una PC mediante una interfaz de audio (M-Audio Audiophile USB). El micrófono se ubicó a 15 cm de la larva en estudio. Durante los registros, fue necesario que dos operadores permanecieran dentro de la cámara anecoica, para el manejo del sonómetro y para la manipulación y estimulación de los renacuajos. El resto de los participantes del estudio, permanecieron fuera de la cámara de medición, digitalizando las señales registradas en la PC. En la figura 1 se muestra un esquema del sistema de medición utilizado.

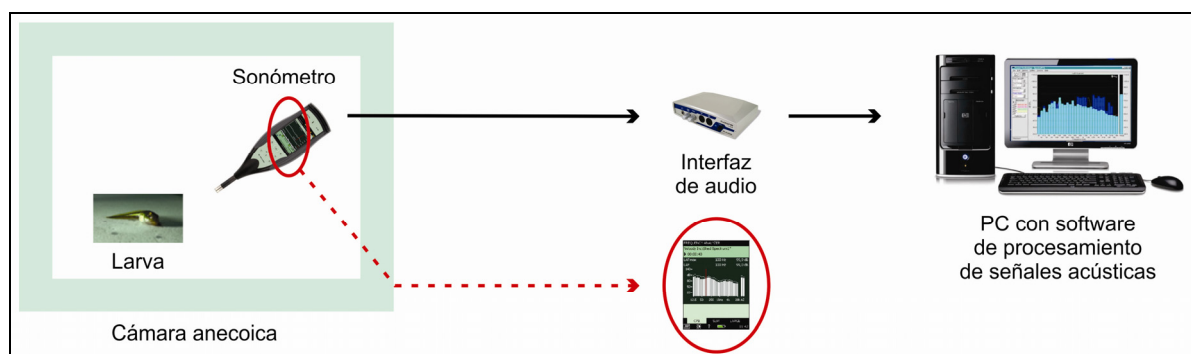


Figura 1. Sistema de medición y registro de sonidos

A partir de los archivos .WAV, mediante software de aplicación se determinaron los siguientes parámetros: frecuencia dominante (F_d , en Hz), duración del sonido (D_s , en s) y

número de pulsos que conforman un sonido (N_p), y se identificaron las componentes espectrales más destacadas de cada sonido.

En la primera etapa, se debieron caracterizar las vocalizaciones emitidas por larvas de un estadio inicial de desarrollo (STD 31), las que emitían sonidos de muy bajo nivel. El ambiente elegido para los registros fue la cámara anecoica del laboratorio (sonido casi sin reflexiones y ruido de fondo controlado). Durante las mediciones, además de los espectros en tercios de octavas, se registraron varios parámetros globales, entre otros: L_{Aeq} , L_{Cpeak} , L_{AFmax} , L_{AFmin} , L_{AF10} , L_{AF90} , L_{AE} , L_{CE} .

3 Análisis de los resultados

En la figura 2 se muestran los parámetros globales obtenidos para 9 de las larvas estudiadas. Puede apreciarse que cada parámetro tiene valores similares para los diferentes especímenes.

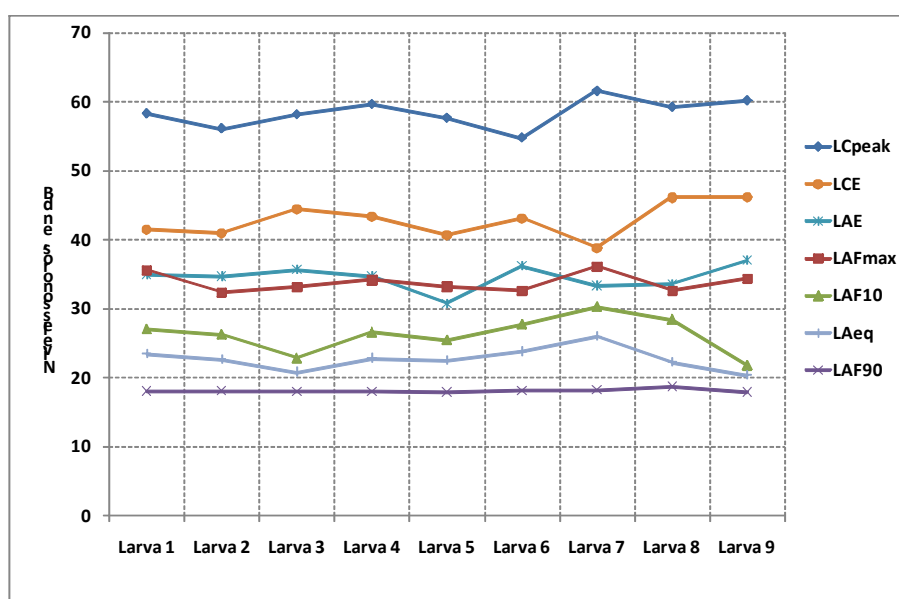


Figura 2. Parámetros globales medidos para nueve larvas.

Cabe destacar que, aun trabajando en condiciones de laboratorio, los sonidos medidos apenas se distinguían del ruido de fondo de la cámara, resultando registros con una baja relación señal-ruido (SNR).

Para la selección de los parámetros acústicos con los que se caracterizarían los sonidos estudiados, se compararon los espectros de las vocalizaciones con el espectro del ruido de fondo de la cámara anecoica (ver algunos ejemplos en la figura 3). De esta comparación surgió que la información de interés estaba en la banda de 2,5 kHz y en las superiores, quedando en evidencia que los parámetros globales medidos con ponderación Z o C estaban condicionados por las componentes de baja frecuencia del ruido de fondo de la cámara, y que no eran representativos de la señal de interés (ver L_{Cpeak} y L_{CE} en figura 2). Por este motivo, dichos parámetros globales fueron descartados para la descripción de los sonidos emitidos por estas larvas.

Por otra parte, se tuvo en cuenta también que L_{Cpeak} es un parámetro muy sensible a las variaciones instantáneas del ruido, por lo que para este caso, en que los operadores de la medición debieron permanecer dentro de la cámara, el nivel pico pudo no haber sido generado por la larva sino por cualquier otra fuente de ruido. Este es otro motivo por el cual no se consideró a ese parámetro como un descriptor de los sonidos en estudio.

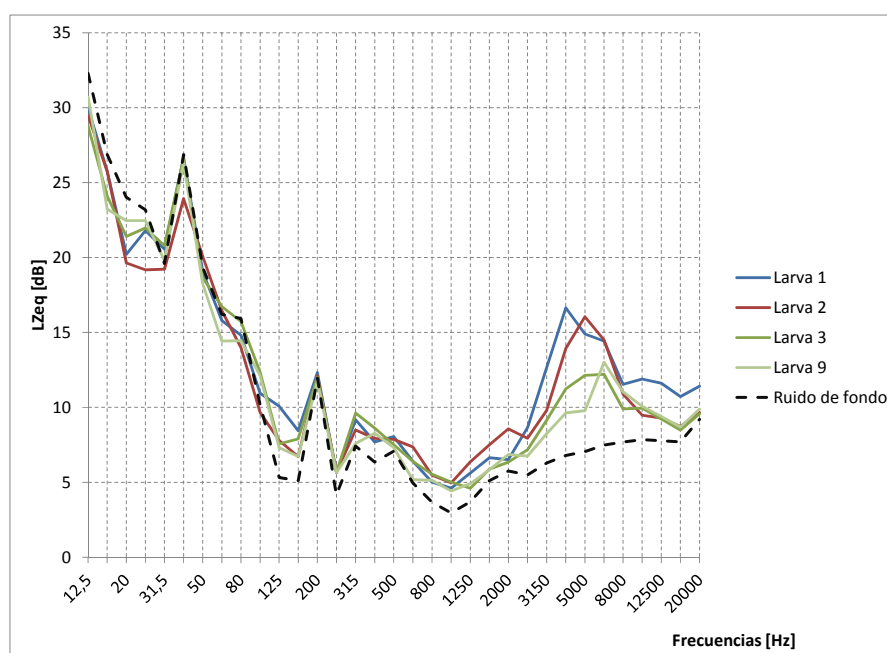


Figura 3. Espectros del sonido producido por las larvas (STD 31) y espectro de ruido de fondo de la cámara anecoica (línea punteada), ambos medidos linealmente (L_{Zeq} , en dB)

En principio, el nivel de exposición sonora, hubiese sido el parámetro más adecuado para la caracterización de un sonido de larva debido a que se trata de un evento sonoro discreto. Pero dado que para poder registrarlos mejor fue necesario medir varios sonidos consecutivos, en tal caso el L_{AE} o el L_{CE} reflejaron la energía total de todos esos sonidos y no de uno solo. Por este motivo, dicho parámetro fue descartado.

Al nivel estadístico L_{AF10} , no se lo encontró representativo de ninguna característica del sonido a evaluar. Y el nivel L_{AF90} se encontró que era representativo del ruido de fondo (el L_{AF90} promedio de las mediciones de sonidos de larvas coincidió con el $L_{Aeq RF}$ del ruido de fondo).

En resumen, por lo anteriormente expuesto, los parámetros: L_{Cpeak} , L_{AE} , L_{CE} , L_{AF90} y L_{AF10} , fueron descartados. Para evaluar si algunos de los restantes parámetros globales (L_{Aeq} y $L_{Amáx}$), podían ser elegidos para la descripción de estos sonidos de larvas de anuros, se realizaron cálculos energéticos sobre la parte del espectro que contenía las señales de interés. Considerando las componentes del espectro que se incrementaban durante los sonidos emitidos por las larvas, se decidió trabajar con las bandas superiores a 1 kHz para evitar la pérdida de información.

A modo de ejemplo, en la figura 4 se muestran los espectros del ruido de fondo y del sonido emitido por una larva (Larva 1), niveles sonoros equivalentes y niveles sonoros máximos, ambos ponderados Z. Con un recuadro de línea punteada se muestra la porción de los espectros que fue utilizada en los cálculos energéticos que se realizaron para la evaluación de los parámetros globales medidos con ponderación A. Para cada espectro, los valores de L_{Zeq} y $L_{Zmáx}$ calculados para las bandas comprendidas entre 1 kHz y 20 kHz, fueron comparados con los valores medidos de L_{Aeq} y $L_{Amáx}$ (espectros completos, 12,5 Hz a 20 kHz). En la tabla 1 se presentan comparativamente los valores calculados y medidos.

Tabla 1. Parámetros globales calculados y medidos (en dB)

Parámetros	Sonido emitido por larva	Ruido de fondo
L_{Zeq} (1k-20k) calculado	23,3	18,2
L_{Aeq} (12,5-20k) medido	23,4	18,1
$L_{Zmáx}$ (1k-20k) calculado	36,1	21,2
$L_{Amáx}$ (12,5-20k) medido	35,5	22,4

Puede apreciarse que las diferencias resultan aceptables, de manera que el filtro de ponderación A del sonómetro puede ser utilizado para eliminar las componentes de baja frecuencia no inherentes al sonido producido por los renacuajos.

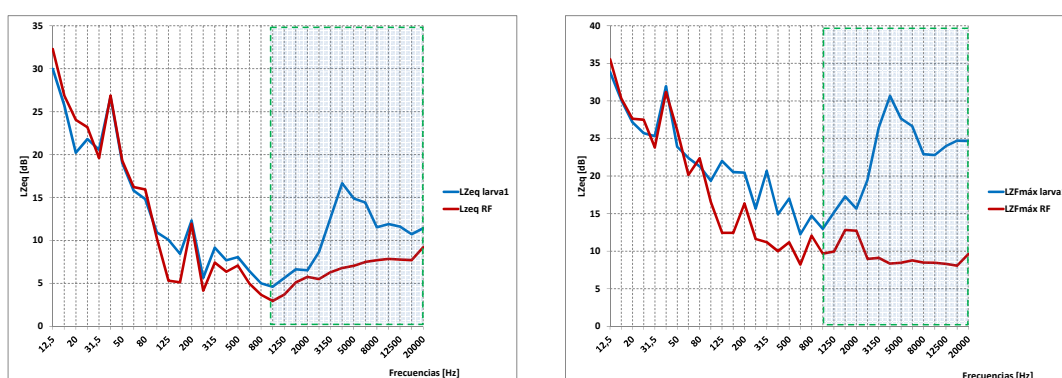


Figura 4. Espectros de niveles sonoros equivalentes y máximos ponderados Z, del sonido emitido por la larva 1 (STD 31) y del ruido de fondo de la cámara anecoica

Para cuantificar la mejora de la relación señal-ruido lograda con este criterio, se calculó la SNR₁ de los espectros completos y se la comparó con la SNR₂ de los espectros reducidos a partir de 1 kHz, tanto para los niveles sonoros equivalentes como para los niveles máximos.

Siguiendo con el ejemplo de la larva 1, para los niveles equivalentes se obtuvo:

$$\left. \begin{aligned} SNR_1 &= 10 \log \left(\frac{P_{eq\text{SEÑAL}1}}{P_{eq\text{RUIDO}1}} \right) = 10 \log \left(\frac{2653,9}{3511,0} \right) = -1,2 \text{ dB} \\ SNR_2 &= 10 \log \left(\frac{P_{eq\text{SEÑAL}2}}{P_{eq\text{RUIDO}2}} \right) = 10 \log \left(\frac{216,0}{66,8} \right) = +5,1 \text{ dB} \end{aligned} \right\} \Delta SNR = +6,3 \text{ dB}$$

Y para los niveles máximos:

$$\left. \begin{aligned} SNR_1 &= 10 \log \left(\frac{P_{máx\text{SEÑAL}1}}{P_{máx\text{RUIDO}1}} \right) = 10 \log \left(\frac{11653,3}{8363,6} \right) = +1,4 \text{ dB} \\ SNR_2 &= 10 \log \left(\frac{P_{máx\text{SEÑAL}2}}{P_{máx\text{RUIDO}2}} \right) = 10 \log \left(\frac{4102,3}{130,6} \right) = +15,0 \text{ dB} \end{aligned} \right\} \Delta SNR = +13,6 \text{ dB}$$

El cómputo energético al descartarse las componentes de bajas frecuencias, propias del ruido de fondo, mejoró la SNR del espectro de niveles sonoros equivalentes, en +6,3 dB (aumentó 4,3 veces). Mientras que para los espectros de niveles sonoros máximos, se produjo una mejora de +13,6 dB (aumentó 22,5 veces).

Finalmente, a partir de estos resultados, a las señales grabadas durante las mediciones se les aplicó un filtrado digital que eliminó las componentes de baja frecuencia. El filtro utilizado fue del tipo pasa-alto de fase lineal con frecuencia de corte 1 kHz, y pendiente de atenuación de 12 dB/década. En la parte izquierda de la figura 5 se muestra un fragmento de una de las grabaciones, en el que puede apreciarse una emisión de sonido de la larva (señal de alta frecuencia) montada sobre las componentes de baja frecuencia del ruido de fondo. A su derecha se presenta el correspondiente espectro.

En la figura 6 se muestra el mismo fragmento conteniendo una emisión sonora luego de habersele aplicado el filtro pasa-alto y, a su derecha, el espectro resultante. Este procedimiento mantuvo intactas las componentes del espectro que contenían la información de interés, mientras que al mismo tiempo generó un registro temporal más “limpio” de las vocalizaciones, permitiendo el reconocimiento de su estructura y una mejor determinación de los parámetros F_d , N_p y D_s .

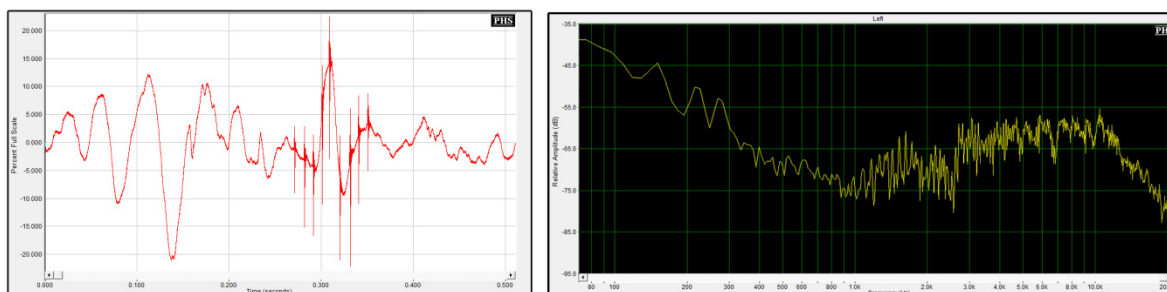


Figura 5. Sonido de larva STD 31 montado sobre ruido de fondo, y su correspondiente espectro

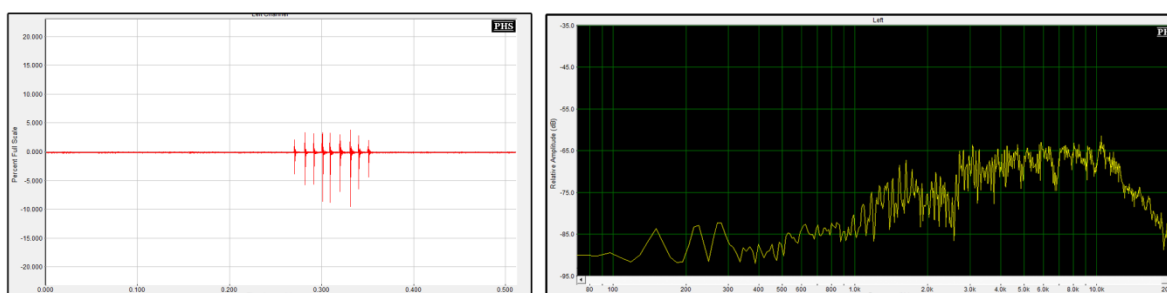


Figura 6. Registro luego del filtrado pasa-alto y su espectro resultante

4 Conclusiones

A partir de este estudio, los parámetros seleccionados para caracterizar los sonidos emitidos por las larvas de *Ceratophrys ornata* en estadio 31 fueron: L_{Aeq} y $L_{AFmáx}$, como indicadores de la energía sonora generada durante la vocalización de los renacuajos (como si fuese una medición con ponderación Z).

La selección de los parámetros medidos con ponderación A en frecuencias no debe interpretarse como que fueron elegidos por ser descriptores del modo en que las larvas perciben el sonido, sino que el método propuesto para la medición de estos sonidos involucró el

aprovechamiento de la existencia de ese filtro en el sonómetro. Se propuso su utilización para mejorar la SNR ante la necesidad de caracterizar señales acústicas de muy bajo nivel, a partir de no contemplar las componentes de baja frecuencias no inherentes al sonido objeto de estudio.

Con el mismo criterio, aplicar un filtro pasa-alto a los registros digitales en el dominio temporal, facilitó la identificación de los sonidos emitidos por las larvas y permitió una determinación más precisa de los parámetros F_d , D_s y N_p .

Referencias

- CCAC Canadian Council on Animal Care (1993). "Guide to the care and use of experimental animals". Internet: http://www.ccac.ca/en/_standards/guidelines. ISBN: 0-919087-18-3
- Natale, Guillermo et al (2011). "Underwater acoustic communication in the macrophagic carnivorous larvae of *Ceratophrys ornata* (Anura: Ceratophryidae)". Revista Acta Zoológica (Stockholm) 92 : 46–53.