

DIVERSIFICACIÓN DE SEÑALES ESTRIDULATORIAS EN POBLACIONES ALOPÁTRICAS DE *Gryllus* sp. (ORTHOPTERA: GRILLIDAE)

Diana Flores-Vera, América Paola Juárez-Ramírez, Ángel Alonso Romero-López y Salvador Galicia-Isasmendi✉

Facultad de Ciencias Biológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla-México, Blvd. Valsequillo y Av. San Claudio, Edificio 112-A, Ciudad, Universitaria, Col. Jardines de San Manuel, C. P. 72570.

✉Autor de correspondencia: salgalic@gmail.com

RESUMEN. Se estudiaron en laboratorio las estridulaciones de machos *Gryllus* sp. recolectados en tres poblaciones en el estado de Puebla. Los parámetros analizados fueron la duración de las sílabas, el número de componentes en las sílabas y las frecuencias principales o formantes. Se encontraron diferencias entre las poblaciones en la duración de las sílabas (0.2 ± 0.03 s vs. 0.16 ± 0.01 s; $p < 0.05$) y en el número de componentes para la población de la localidad Héroes. Las diferencias encontradas se asocian a un incremento en la amplitud de las estridulaciones, que a su vez podrían reflejar un ambiente contaminado acústicamente, ya que los organismos con estridulaciones diferentes corresponden a una localidad inmersa en la ciudad capital de Puebla, las otras localidades corresponden a municipios pequeños en el interior del estado. Sin descartarse que las diferencias encontradas en las estridulaciones sean un reflejo de la divergencia entre poblaciones, asociadas a otras causas, por lo que ambas posibilidades deben explorarse en trabajos posteriores.

Palabras clave: Llamado, ruido ambiental, comunicación acústica.

Diversification of stridulatory signals in allopatric populations of *Gryllus* sp. (Orthoptera, Gryllidae)

ABSTRACT. The stridulatory signals of *Gryllus* sp. males of three allopatric populations from the State of Puebla, Mexico were studied under laboratory conditions. Parameters analyzed were syllable duration, number of components in syllable and basic frequencies (formants). Statistical differences were found for syllable duration (0.2 ± 0.03 s vs. 0.16 ± 0.01 s; $p < 0.05$) and number of components in the site “los Heroes” (11 ± 2 vs. 3.5 ± 0.8 ; $p < 0.01$). There were found 4 formants in all 3 populations, but in place “los Heroes” two formants showed some similar frequencies (≈ 3.2 KHz; $p > 0.05$) which preclude to found statistical differences, as were observed in the other two populations. These differences are associated to an increase in amplitude of stridulations which in turn probably reflects a noisy environment, since organisms with different stridulations came from a big city, while other organism come from small towns. But it cannot be excluded that such differences in stridulation can be related to divergences between populations, arising by other reasons, so both possibilities must be addressed in future experiments.

Keywords: Call, environmental noise, acoustic communication.

INTRODUCCIÓN

Las conductas de comunicación acústica son de suma importancia en los ortópteros, ya que se ha demostrado que caracteres involucrados en conductas reproductivas muestran una amplia plasticidad evolutiva. Los machos producen señales estridulatorias que pueden servir para la comunicación intra e intersexual, estas señales guardan información acerca de la identidad de las especies y sobre la condición fisiológica y reproductiva del macho que las produce por lo que influyen sobre las hembras que evalúan a distancia a los machos como posibles parejas reproductivas, con todas las consecuencias en cuanto a depredación que las hembras pueden sufrir al desplazarse hacia el macho elegido (Robillard y Desutter-Grandcolas, 2011; Ercit y Gwynne, 2015).

Los caracteres conductuales, particularmente los sociales o reproductivos, pueden evolucionar más rápido que los caracteres morfológicos (Puniamoorthy *et al.*, 2009), pero en las estridulaciones producidas por los machos se ha propuesto que tanto caracteres morfológicos como conductuales se encuentran ligados ya que éstas son producidas por especializaciones de las alas llamadas tegmina; como las alas de los grillos no son importantes para el vuelo su morfología puede ser principalmente el resultado de la adaptación a la selección sexual (David *et al.*, 2003; Pitchers *et al.*, 2014).

La evolución de caracteres conductuales y morfológicos puede ser influida por cambios en el medio ambiente que inducen a su vez cambios plásticos en la conducta de los individuos, plasticidad que puede eventualmente, si posee una base genética, ser fijada por selección natural por lo que estos procesos inducen a la diversidad conductual (West-Eberhard, 1989).

Este trabajo tuvo por objeto la descripción de las frecuencias que componen las señales estridulatorias y la estructura de sus espectrogramas en machos de la especie *Gryllus* sp. provenientes de tres poblaciones alopátricas en el estado de Puebla, con lo cual se busca aportar información sobre la variación, asociada a la distribución geográfica y a las condiciones ambientales, un tema con implicaciones evolutivas en ortópteros, que se encuentra poco desarrollado en México (Buzzetti y Barrientos-Lozano, 2011; Fontana *et al.*, 2013).

MATERIALES Y MÉTODO

Se recolectaron manualmente 15 individuos machos (5 por cada localidad) en tres municipios del estado de Puebla: San Salvador Atoyatempan (18° 49' 00" N 97° 55' 00" O), San Andrés Calpan (19° 6' 0" N, 98° 27' 0" O) y la capital del estado, en la colonia Los Héroes Puebla al sur de la ciudad (18° 58' 14.2" N 98° 12' 46.9" O). Los grillos fueron recolectados durante los meses de mayo a Julio de 2016. Los individuos fueron transportados al laboratorio y colocados individualmente en cajas de acrílico (con arena y grava como substrato), se mantuvieron a temperatura ambiente (23-25 °C). Se permitió su aclimatación por una semana previa al inicio de las grabaciones de su actividad estridulatoria. Los grillos fueron alimentados con Purina® cat chow® y agua *ad libitum*.

Posteriormente los organismos fueron introducidos de manera individual por la noche (6:00 pm a 8:00 am) a una cámara entre 23-25 °C, sin iluminación y con aislamiento acústico. Esta contaba con un micrófono unidireccional tipo electreto conectado a una grabadora digital (REC-830, Steren) en modo ARS (a 64 Kbps) que permite activar automáticamente la grabación en presencia de sonidos. Para el análisis de los registros fuera de línea entre agosto y noviembre, se empleó el programa PRAAT Versión 5.3.68 (Boersma y Weenink, 2014). Se buscaron en los oscilogramas patrones sonoros repetitivos (sílabas), en las que se midieron sus frecuencias principales o “formantes”, así como su duración y número de componentes dentro de cada sílaba (20 sílabas escogidas de manera aleatoria de cada uno de los cinco individuos).

Los espacios entre sílabas (es decir el patrón del llamado) no fueron estudiados ya que esta frecuencia muestra una amplia variabilidad entre individuos e incluso en el mismo individuo, pudiendo variar entre el inicio, la parte media o el final de los tiempos de registro. Los datos se expresan como la media \pm el error estándar. Para el análisis se aplicó una prueba de ANDEVA de dos vías y una post-prueba de comparaciones múltiples de Tukey. Para la duración de las sílabas y el número de componentes en cada sílaba se empleó un análisis de una vía. Se consideraron como significativas a aquellas diferencias cuya probabilidad fue menor a $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las estridulaciones producidas por los organismos en cada una de las tres poblaciones estudiadas están formadas por respuestas estereotipadas con unidades mínimas repetibles que fueron identificadas como sílabas (Fig. 1). El espacio entre sílabas o patrón del llamado es relativamente constante, pero cuando se toman periodos largos de tiempo (horas) el patrón del llamado resulta altamente variable por lo que no se definió un patrón característico, esto no resulta sorprendente ya que se sabe que la frecuencia con la que se producen las sílabas puede variar incluso con la temperatura (Mhatre *et al.*, 2016).

En la figura 2 se muestran los espectrogramas correspondientes a los oscilogramas de la figura 1, el patrón de escala de grises representa la amplitud relativa para los sonidos a una frecuencia particular entre 0 y 5 KHz. A partir de estos oscilogramas el programa PRAAT (Versión 5.3.68) identificó las frecuencias principales o formantes (F1 a F4) mostradas en la figura 3, las formantes se reconocen como cúmulos de densidad espectral mayor, bien definidos para las localidades Atoyatempan y Calpan, pero un tanto más dispersos para la F4 de la localidad Héroes, en contraste las formantes F2 y F3 de esta última localidad se observan como cúmulos densos contiguos.

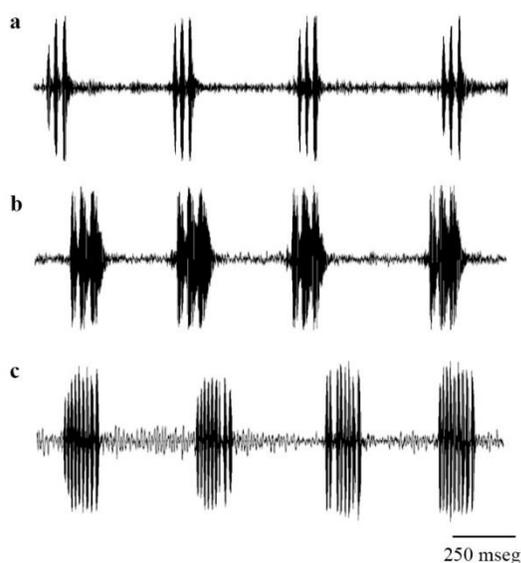


Figura 1. Unidades mínimas repetitivas (sílabas) en estridulaciones de organismos de *Gryllus* sp. Se muestran oscilogramas con 4 sílabas para organismos representativos de tres localidades en el estado de Puebla: Atoyatempan (a), Calpan (b) y Los Héroes (c).

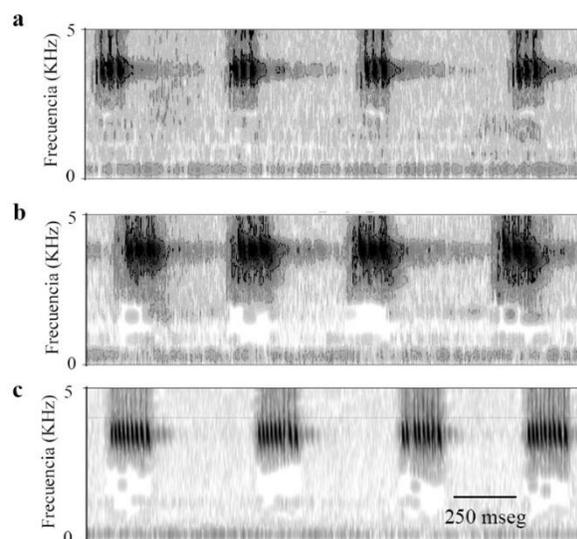


Figura 2. Espectrogramas de estridulaciones de *Gryllus* sp. Los gráficos corresponden a oscilogramas de sílabas mostradas en la figura 1. Localidades Atoyatempan (a), Calpan (b) y Los Héroes (c). Estado de Puebla.

Un análisis cuantitativo de las formantes por localidad es mostrado en la figura 4, en ésta se observa que las frecuencias medias de las formantes F1 a F4 son diferentes entre sí ($p < 0.05$) para las tres localidades, pero no se encontró diferencia significativa entre las formantes F2 y F3 en localidad Héroes ($p > 0.05$) lo cual se corresponde con la contigüidad que estas muestran en la figura 3. Los otros parámetros analizados fueron la duración de la sílaba (Fig. 5A) y el número de elementos en de cada sílaba (Fig. 5B), para ellos se encontró nuevamente que la localidad Héroes difiere estadísticamente de las otras.

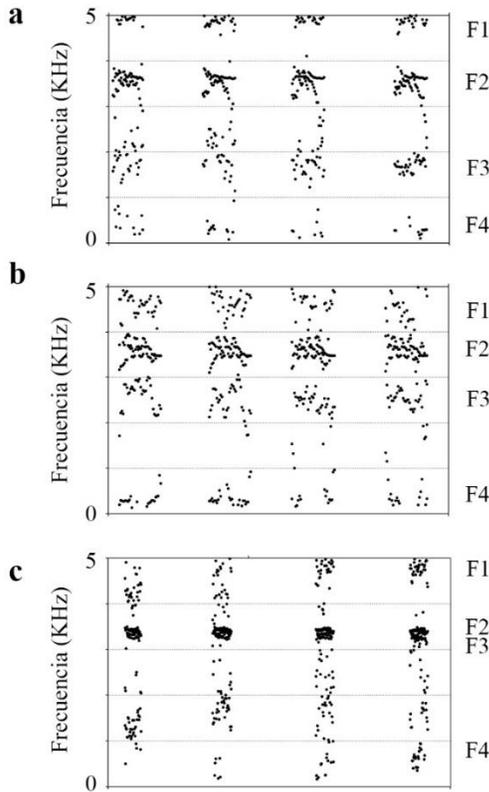


Figura 3. Formantes (F1-F4) o frecuencias características de estridulaciones de *Gryllus* sp. Los gráficos corresponden a los oscilogramas de sílabas mostradas en la figura 1, localidades Atoyatempan (a), Calpan (b) y Los Héroes (c), Estado de Puebla

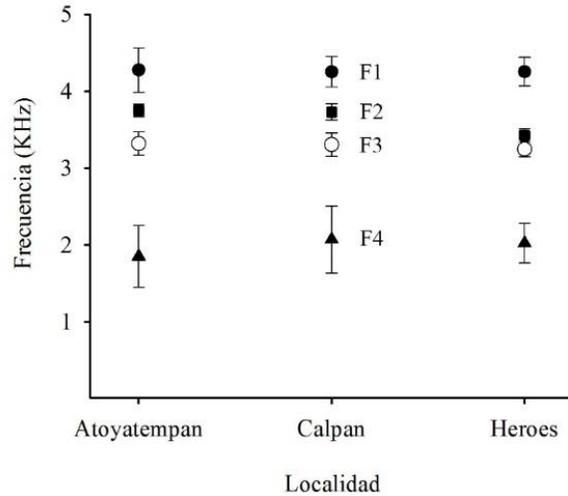


Figura 4. Frecuencia promedio de las formantes (F1-F4) de estridulaciones de *Gryllus* sp. Se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las 4 formantes producidas por cada una de las tres poblaciones, excepto las formantes F2 y F3 de individuos de la localidad Héroes ($p > 0.05$). N=15, 5 individuos por localidad.

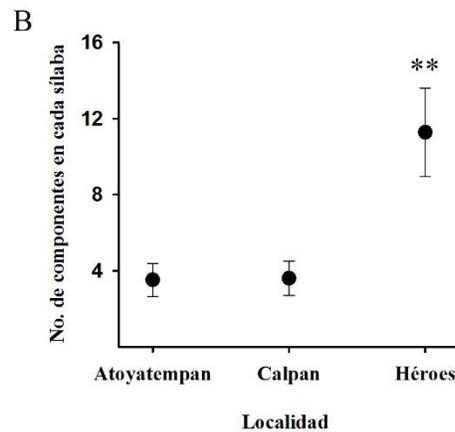
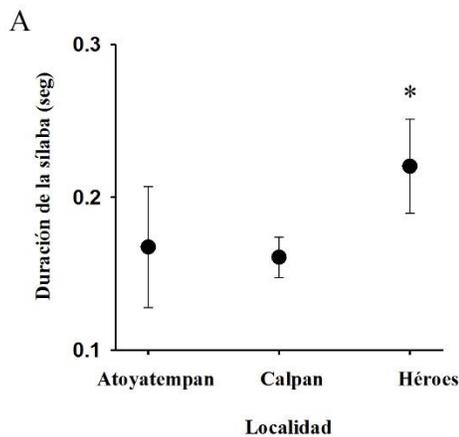


Figura 5. Duración media (A) y número de componentes (B) en sílabas producidas por cada una de las poblaciones de *Gryllus* sp. estudiadas. Se encontró diferencia significativa en ambas variables para individuos de la localidad Héroes. * y ** indican respectivamente $p < 0.05$ y $p < 0.01$.

Las estridulaciones producidas por individuos de cada una de las poblaciones estudiadas muestran semejanzas como el número de formantes y las frecuencias alrededor de las cuales se distribuyen (Fig. 3). Sin embargo, existen diferencias significativas entre las localidades Atoyatempan y Calpan con respecto a la localidad Héroes. Las estridulaciones emitidas por individuos de esta localidad necesitan estudio adicional. Las señales acústicas reproductivas se encuentran moldeadas por múltiples presiones de selección y han demostrado ser sensibles a condiciones ambientales y de selección sexual.

La primera de estas posibilidades podría estar relacionada con el incremento en los niveles de ruido antropogénico ya que la localidad Héroes, cuya población mostró diferencias en las estridulaciones, está inmersa en la ciudad de Puebla la cual posee un millón y medio de habitantes, mientras que las otras dos poblaciones son de localidades con población de 6000 (Atoyatempan) y 13 000 (Calpan) habitantes aproximadamente.

Se ha observado en diversos grupos: aves, anuros y ortópteros, que al vivir en ambientes ruidosos las frecuencias de sus llamados se incrementan separándose de los rangos de frecuencias en los que se localiza el ruido ambiental. También se han descrito otras estrategias que implican variación en los patrones temporales del canto, ya sea reduciendo o extendiendo su duración o bien en el caso de aves y mamíferos, incrementando su amplitud (Nemeth *et al.*, 2013). Un ejemplo, de alguno de los casos anteriores lo constituye la competencia por canales de comunicación en ambientes ruidosos o partición acústica de nicho entre grillos y katídidos que habitan en la selva tropical (Römer, 2013). En *Platypleis intermedia* (Serv.) se ha reportado que existen modificaciones del canto (echemas tri o hexa silábicos) al coincidir en la producción de llamados con otras especies como *P. affinis* o *P. falx* (Samways, 1977).

En los organismos de la localidad Héroes, se observa precisamente un incremento significativo en la longitud de las sílabas (Fig. 5A) y un aumento en la densidad espectral, es decir un incremento en la amplitud, provocado por una tendencia a la fusión de las formantes F2 y F3 (Fig. 3), el espectrograma (Fig. 2) es menos difuso en la población Héroes.

Una de las vertientes a estudiar en próximos trabajos sería definir, con grabaciones en campo, la distribución espectral y la magnitud del ruido ambiental en cada una de las tres localidades, parámetros que podrían relacionarse con las diferencias encontradas en este trabajo. Otra posibilidad podría ser a que las diferencias en las estridulaciones sean un reflejo de la divergencia entre poblaciones (Barrientos-Lozano *et al.*, 2015), lo que implicaría diferencias genéticas por lo que esta posibilidad también debería explorarse.

CONCLUSIÓN

Las estridulaciones producidas por individuos de cada una de las poblaciones alopátricas de *Gryllus* sp. están formadas por respuestas estereotipadas con unidades mínimas repetibles que fueron identificadas como sílabas. Las sílabas poseen 4 formantes distribuidas entre los 2 y 4.3 KHz, que estadísticamente difieren entre sí, no obstante, para el caso de la población de la localidad Héroes las formantes F2 y F3 no son significativamente diferentes tendiendo a fusionarse, lo cual implica un incremento en la densidad espectral alrededor de los 3.3 KHz. Estas diferencias nos reflejan divergencias en una de las poblaciones que podrían asociarse a múltiples factores, por ejemplo, un ambiente con contaminación acústica antropogénica, lo cual abre una ruta de investigación importante para futuros trabajos.

Agradecimientos

Al Proyecto VIEP 2016-17: 00186, 00420. Galicia IS.

Literatura Citada

- Boersma, P. and D. Weenink. 2014. *Praat: doing phonetics by computer [Computer program]*. Version 5.3.51. Disponible en: <http://www.praat.org/>. (Fecha de consulta: 2-III-2014).
- Buzzetti, F. M. and L. Barrientos-Lozano. 2011. Bioacoustics of some Mexican Orthoptera (Insecta: Orthoptera: Ensifera, Caelifera). *Bioacoustics, The International Journal of Animal Sound and its Recording*, 20(2): 192–213.
- David, J., Zefa, E., and C. Fontanetti. 2003. Cryptic species of *gryllus* in the light of bioacoustics (Orthoptera: Gryllidae). *Neotropical Entomology*, 32(1): 075–080.
- Ercit, K. and D. T. Gwynne. 2015. Darwinian balancing selection: Predation counters sexual selection in a wild insect. *Evolution*, 69(2): 419–430.
- Fontana, P., Mariño-Pérez, R. and D. Woller. 2013. Studies in Mexican Tettigoniidae: A new genus of Copiphorini and the first description of male *Conocephalus (Aphauropus) leptopterus* Rehn and Hebard and the female of *Insara acutitegmina* Fontana, Buzzetti, Mariño-Pérez y García-García. *Zootaxa*, 3737(4): 429–453.
- Barrientos-Lozano, L., Rocha-Sánchez, A., Buzzetti, F., Almaguer-Sierra P. y S. Mora. 2015. Señales acústicas en dos poblaciones alopátricas de *Conocephalus (Xiphidion) ictus* (Scudder, 1875) (orthoptera: tettigoniidae). *Entomología mexicana*, 2: 540–546.
- Mhatre, N., Pollack, G. and A. Mason. 2016. Stay tuned: active amplification tunes tree cricket ears to track temperature-dependent song frequency. *Biology Letters*, 12(4): pii: 20160016.
- Nemeth, E., Pieretti, N., Zollinger, S. A., Geberzahn, N., Partecke, J., Miranda, A. C. and H. Brumm. 2013. Bird song and anthropogenic noise: vocal constraints may explain why birds sing higher-frequency songs in cities. *Proceeding of the Royal Society, B* 280: 2012-2798.
- Pitchers, W. R., Klingenberg, C. P., Tregenza, T., Hunt, J. and I. Dworkin. 2014. The potential influence of morphology on the evolutionary divergence of an acoustic signal. *Journal of Evolutionary Biology*, 27(10): 2163–2216.
- Puniamoorthy, N., Ismail, M. R. B., Tan, D. S. H. and R. Meier. 2009. From kissing to belly stridulation: comparative analysis reveals surprising diversity, rapid evolution, and much homoplasy in the mating behaviour of 27 species of sepsid flies (Diptera: Sepsidae). *Journal of Evolutionary Biology*, 22: 2146–2156.
- Robillard, T. and L. Desutter-Grandcolas. 2011. The complex stridulatory behavior of the cricket *Eneoptera guyanensis* Chopard (Orthoptera: Grylloidea: Eneopterinae). *Journal of Insect Physiology*, 57: 694–703.
- Römer, H. 2013. Masking by noise in acoustic insects: problems and solutions. Pp. 33–63. In: H. Brumm, (Ed.). *Animal communication and noise*. Vol 2. Springer, Berlin, Heidelberg.
- West-Eberhard, M. J. 1989. Phenotypic plasticity and the origins of diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20: 249–278.
- Samways, M. 1977. Bush cricket interspecific acoustic interactions in the field (Orthoptera, Tettigoniidae). *Journal of Natural History*, 11(2): 155–68.