



Fundação Universidade Federal do ABC

Pró reitoria de pesquisa

Av. dos Estados, 5001, Santa Terezinha, Santo André/SP, CEP 09210-580

Bloco L, 3ºAndar, Fone (11) 3356-7617

iniciacao@ufabc.edu.br

Projeto de Iniciação Científica submetido

para avaliação no Edital: 04/2022 (PIBIC)

Título do projeto: Comunicação sonora em grilos em diferentes temperaturas ambientais: análise do canto dos machos e avaliação das preferências das fêmeas

Palavras-chave do projeto: Etologia, Comunicação, Grilos, Temperatura

Área do conhecimento do projeto: Comunicação e Informação

Sumário

1 Resumo	2
2 Introdução	2
3 Objetivos	7
4 Métodos e resultados esperados	8
5 Viabilidade	8
6 Cronograma de atividades	8
7 Referências	9

1 Resumo

A comunicação requer que sinais sejam compartilhados entre os indivíduos emissor e receptor. Investigaremos a comunicação em grilos, em que os machos variam seus cantos em função da temperatura do ambiente, e de forma acoplada, as fêmeas também respondem para os cantos em função da temperatura. O objetivo do projeto é implementar essa nova linha de pesquisa e replicar os experimentos comportamentais clássicos de acoplamento de temperatura. O projeto consiste em desenvolver os equipamentos de coleta para (1) realizar os registros do canto dos machos em diferentes temperaturas ambientes e (2) registro de movimentos de resposta das fêmeas a cantos de diferentes temperaturas, estando as fêmeas também em diferentes temperaturas ambientes. Esses estudos permitirão viabilizar experimentos futuros de investigação das bases neurais da comunicação em grilos, com fins acadêmicos e didáticos.

2 Introdução

O som é um meio eficiente para comunicação: permite passar mensagens rapidamente e por longas distâncias, em condições de baixa luz ou na existência de obstáculos. A estrutura temporal e as frequências do som podem carregar os sinais da comunicação. Ainda, para que a comunicação seja efetiva, os sinais devem ser compartilhados entre os indivíduos emissor e receptor – as ações que geram o som e os sistemas de filtragem sensorial e geração do comportamento devem ser finamente controlados.

Esse orquestramento entre os cantos produzidos e reconhecidos foi amplamente estudado em grilos – trata-se de um sistema-modelo tradicional dos estudos de Neuroetologia. Nosso grupo de trabalho se interessou por esses animais pela grande quantidade de conhecimento prévio sobre seu comportamento, as bases anatômicas e a dinâmica dos circuitos neurais associados à produção e reconhecimento do canto em grilos, assim como a facilidade de criação desses animais. Temos objetivos didáticos e científicos – produzir materiais e práticas de estudo do comportamento, neuroanatomia e neurofisiologia para cursos de graduação, aliado a uma replicação dos estudos-chave usando teoria e prática modernas, com potencial de refinamento no entendimento desse sistema e produção de novos conhecimentos.

A espécie que estudaremos é denominada grilo-preto (*Gryllus assimilis*), conhecido por seu característico canto, popularmente chamado de “cri-cri”. Os insetos dessa espécie possuem diferentes tipos de canto, que podem variar conforme situação, época do ano e até

mesmo habitat, sendo identificados até 8 tipos de cantos diferentes (Walker e Masaki, 1989). Esses animais também costumam “cantar” mais em períodos noturnos (Frings e Frings, 1957).

Especificamente, investigaremos os efeitos da temperatura na produção e reconhecimento dos cantos. Em 1897, o físico Amos Dolbear propôs a ideia de que a temperatura externa/ambiente influencia diretamente na frequência do canto dos grilos: quanto maior a temperatura, maior a frequência do canto (Dolbear, 1897). Desde então, esta ideia vem sendo investigada em diversas espécies de grilos.

Comunicação sonora em grilos

Os grilos usam diferentes tipos de canto para comunicação intraespecífica (Figura 1). O canto de chamado produzido pelos machos atrai fêmeas receptivas. Uma vez que a fêmea está próxima, o macho produz um segundo tipo de canto, mais suave, que atrai a fêmea à cópula – esse é denominado canto de corte. O canto de chamado também atrai outros machos em busca de fêmeas receptivas – uma vez que o outro macho está próximo, eles disputam o território produzindo cantos agressivos e lutando.

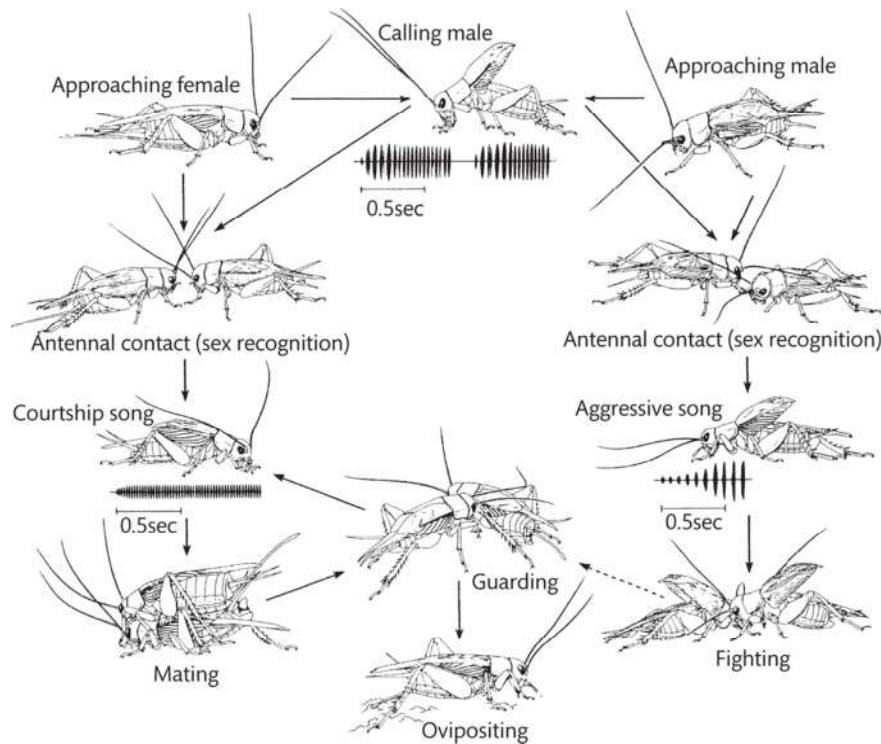


Figura 1: Comunicação em grilos australianos *Teleogryllus commodus*. Os cantos de chamado (acima) estão associados à aproximação de fêmeas e machos. Os cantos de corte (esquerda) estão associados à cópula. Os cantos de agressão (direita) estão associados à disputa de território com outros machos. (Figura de Loher e Dambach, 1989).

Os comportamentos orquestrados que queremos investigar são (1) a produção de canto de chamado dos machos e (2) a atração de fêmeas receptivas para esse canto.

Produção sonora

O canto de chamado produzido pelo macho, assim como os demais cantos, são produzidos por estridulação, em que as asas são friccionadas entre si, como num reco-reco

(Figura 2): a “baqueta” da asa esquerda (abaixo) é raspada entre as “ranhuras” da asa direita (acima)

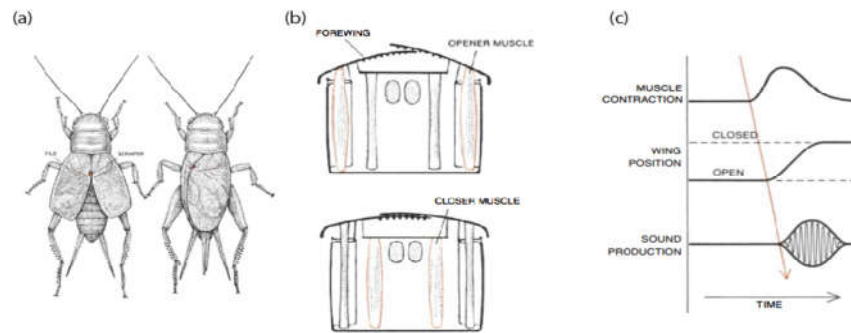


Figura 2: Produção do canto em grilos. (a) Macho em posição de canto. (b) Esquema das asas durante a estridulação. (c) Contração muscular, movimento das asas e produção de uma sílaba do canto. (Figuras de Bentley e Hoy, 1974)

Reconhecimento sonoro

Quando uma fêmea receptiva ouve o canto de chamado de um macho, ela deve reconhecer esse canto como um sinal apropriado ao qual deve reagir, localizar a fonte sonora e se mover em direção a ela.

O processamento inicial dos cantos de chamado, assim como dos demais cantos, se dá nas orelhas dos grilos. As orelhas dos grilos são situadas no primeiro par de pernas (Figura 3). As orelhas dos dois lados do corpo são conectadas por traquéias que terminam em espiráculos. A informação auditiva é passada para os nervos auditivos e para gânglios e cérebro.

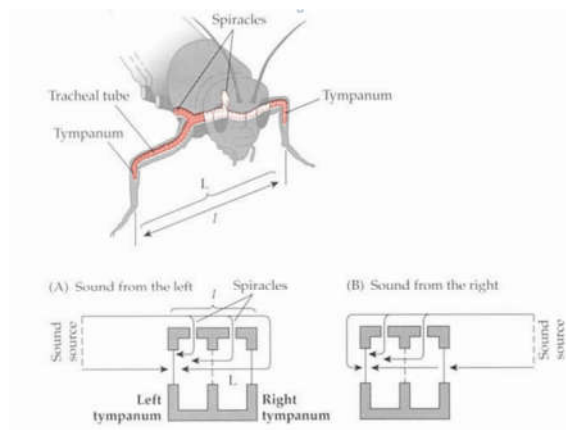


Figura 3: Anatomia da orelha de grilos. O tímpano situado na perna esquerda recebe som proveniente do espiráculo direito e parte externa esquerda. A vibração do tímpano varia dependendo da posição da fonte sonora. (Figura de Carew, 2004)

Há diferentes maneiras de se investigar o comportamento de reconhecimento sonoro em grilos intactos. Em um tipo de experimento, fêmeas caminham livremente em uma sala com dois alto-falantes gerando cantos sintéticos em lados opostos. As fêmeas fazem então uma escolha ao se encaminhar em direção a um dos estímulos. Em outro tipo de experimento, a fêmea é fixada numa haste, de modo a ter suas patas livres para empurrar uma bola

suspensa numa corrente de ar (Figura 4). Os movimentos da bola são processados para reconstruir o movimento da fêmea, como se ela estivesse caminhando livremente. Esse protocolo permite avaliar as preferências das fêmeas por diferentes padrões de canto de chamado.

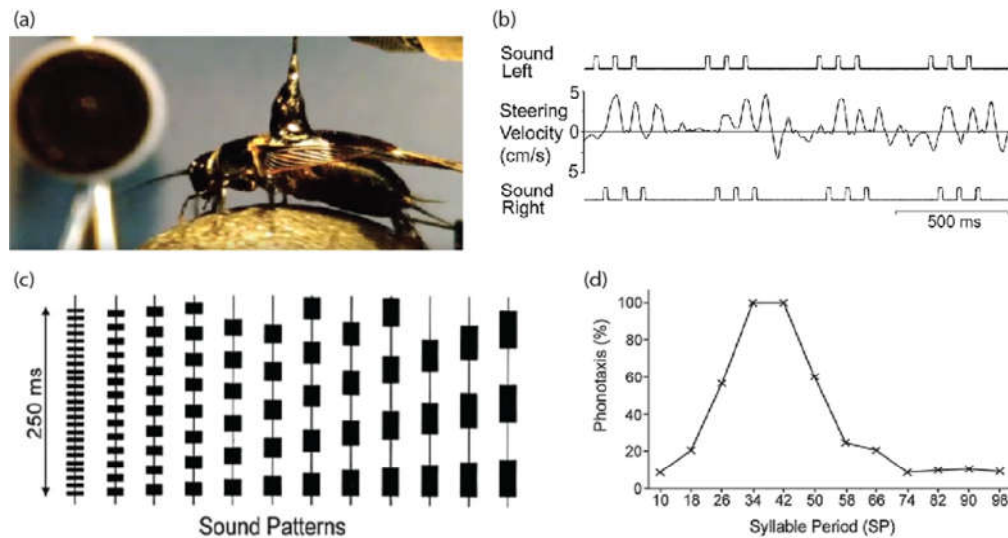


Figura 4: Movimentos de caminhada de fêmea em direção ao canto de chamada. (a) A fêmea é fixada numa haste e caminha numa bola suspensa em ar comprimido, cujos movimentos são detectados por sensores ópticos. Os alto-falantes tocam chamados gravados ou chamados sintéticos. (b) Respostas de caminhada para cantos vindos dos falantes da esquerda e direita. (c) Sons sintéticos com diferentes padrões temporais. (d) Preferência das fêmeas por padrões temporais específicos (Figura a de <https://youtu.be/oVL82zuPbLU>; figuras b-d de Hedwig, 2006).

As bases neurais desse processo de tomada de decisão são bem estudadas. O processamento é baseado em mecanismos de detecção de coincidências que respondem seletivamente quando o canto de chamado segue a estrutura temporal típica da espécie (Figura 5).

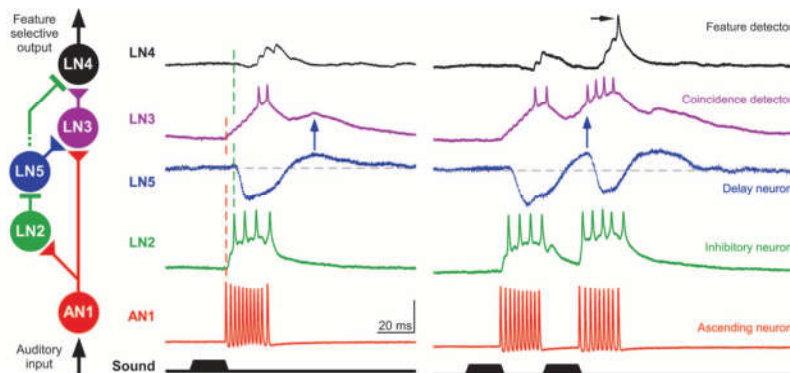


Figura 5: Circuitaria e mecanismo da rede detetora de padrões do canto de chamada. Uma sílaba não gera disparo no neurônio LN4 (esquerda), enquanto duas sílabas com um atraso específico geram disparo no neurônio LNr (direita). Figura de Schöneich, Kostarakos e Hedwig 2015)

Acoplamento de temperatura

Como mencionado precisamente, para que a comunicação seja efetiva, os sinais devem ser compartilhados entre os indivíduos emissor e receptor – as ações que geram o som e os sistemas de filtragem sensorial e geração do comportamento devem ser finamente controlados. Os grilos, no entanto, são animais ectotérmicos e a atividade dos neurônios e músculos envolvidos na produção dos cantos variam com a temperatura do ambiente. Múltiplos aspectos do canto de chamado são alterados com a temperatura (Figura 6) – isso é um potencial problema para a comunicação entre estes animais, uma vez que as fêmeas têm preferências por padrões específicos de canto de chamado.

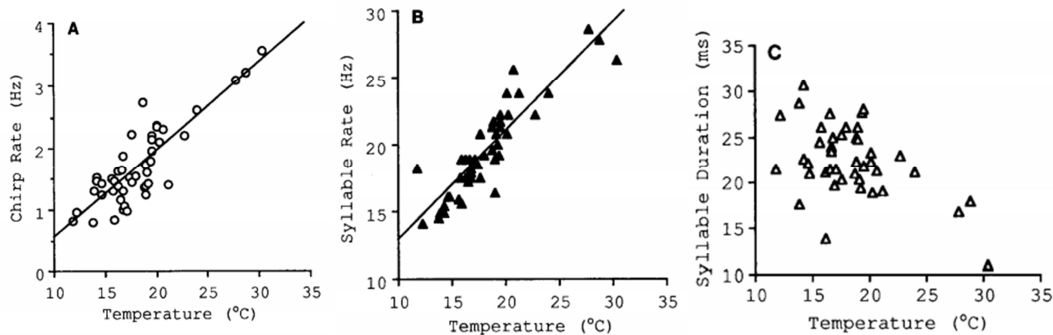


Figura 6: Parâmetros temporais do canto de chamada de *Gryllus firmus* gravados no ambiente natural. (Figura de Pires e Hoy, 1992).

Existem três potenciais soluções para esse problema: (1) as fêmeas respondem a faixa larga de variação do sinal; (2) o sinal para qual a fêmea responde é invariante com a temperatura; ou (3) o critério da fêmea de resposta ao sinal muda com a temperatura. Essa última solução é denominada acoplamento de temperatura e é a que foi observada nos grilos: as propriedades do sinal produzido pelo macho e os critérios de resposta das fêmeas mudam associadamente com a temperatura do ambiente. A Figura 7 mostra os resultados de preferência de canto produzidos em diferentes temperaturas por fêmeas mantidas em diferentes temperaturas: as fêmeas se aproximam mais dos sons produzidos em temperaturas correspondente à temperatura ambiente (Pires e Hoy, 1992).

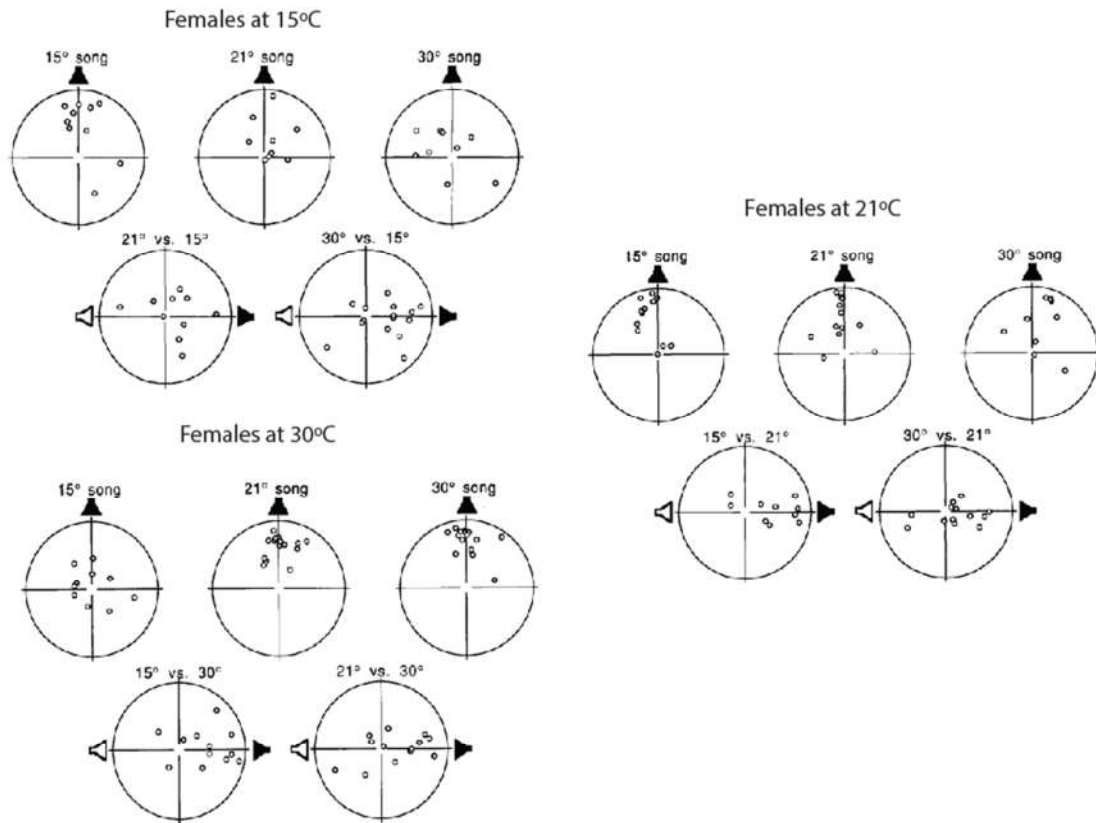


Figura 7: Fêmeas respondem preferencialmente para o canto produzido na mesma temperatura do ambiente em que estão. Há maior densidade de fêmeas próximo aos falantes com som gravado na mesma do ambiente em que estão (falante desenhado em preto). (Figura de Pires e Hoy, 1992).

3 Objetivos

Objetivo grande utópico (do grupo de trabalho ao qual esse projeto está associado): entender a base neural do acoplamento de temperatura.

Objetivos deste projeto: implementar linha de pesquisa com grilos e replicar os experimentos comportamentais de acoplamento de temperatura.

Objetivo do experimento 1: captura e análise do canto de chamada dos machos em diferentes temperaturas ambientes.

Objetivo do experimento 2: avaliação das preferências das fêmeas por falantes apresentando cantos de chamada com temperaturas acopladas

4 Métodos e resultados esperados

Experimento 1: captura de canto de chamada dos machos em diferentes temperaturas ambientes.

Inicialmente, iremos variar a temperatura ambiente sistematicamente e capturar o áudio do canto produzido pelos grilos, analisando os parâmetros temporais do canto. Para o aquecimento e resfriamento do ambiente, os grilos serão colocados em um aquário de vidro imerso o máximo possível em um banho-maria para um aquecimento uniforme. Um microfone será utilizado para capturar o áudio do canto dos grilos, que posteriormente será analisado por meio de espectrogramas e analisadores de frequência. Os resultados esperados estão apresentados na Figura 6.

Experimento 2: avaliação das preferência das fêmeas por falantes apresentando cantos de chamada com temperaturas acopladas

Os cantos gravados a 15, 21 e 30°C serão apresentados individualmente ou em pares usando um ou dois alto-falantes para fêmeas em ambientes de 21°C em uma arena circular. Usando gravação de vídeo, avaliaremos a direção do deslocamento e a posição dos animais. Os resultados esperados estão apresentados na Figura 7, com resposta preferencial às temperaturas acopladas.

Em seguida, pretendemos replicar os achados usando o sistema com a bola suspensa, agora avaliando a direção do deslocamento nas 3 temperaturas de produção de canto pelo macho combinado às 3 temperaturas de resposta ao canto da fêmea, usando um ou dois alto-falantes. O resultado esperado é o mesmo da arena circular – com a diferença de manipulação da temperatura ambiente das fêmeas. Os benefícios adicionais de desenvolver esse protocolo são viabilizar futuros experimentos com manipulações de temperatura em porções específicas do corpo do grilo, assim como realizar registros eletrofisiológicos.

5 Viabilidade

O primeiro contato do aluno candidato com esse projeto foi na disciplina Base Experimental das Ciências Naturais no oferecimento interquadri Q1-Q2, em que foi planejado e parcialmente executados os Experimento 1 e 2 descritos neste projeto.

Os grilos estão sendo mantidos no Laboratório 7 do bloco Delta do campus. Nesse laboratório há todo equipamento para preparação dos setups experimentais (computadores, sensores, termostatos, bomba de ar comprimido etc).

6 Cronograma de atividades

1. Familiarização com literatura de grilos e acoplamento de temperatura
2. Montagem do setup experimental do Experimento 1
3. Coleta e análise dos dados do Experimento 1
4. Montagem do setup experimental do Experimento 2
5. Coleta e análise dos dados do Experimento 2
6. Sistematização dos resultados e preparação de relatório/pôster

	Bimestre 1	Bimestre 2	Bimestre 3	Bimestre 4	Bimestre 5	Bimestre 6
Etapa 1	X	X				
Etapa 2	X					
Etapa 3	X	X				
Etapa 4		X	X	X		
Etapa 5				X	X	X
Etapa 6					X	X

7 Referências

- Bentley D, Hoy RR. 1974. The neurobiology of cricket song. Scientific American
- Carew TJ. 2004. Behavioral Neurobiology: The Cellular Organization of Natural Behavior. OUP Oxford.
- Dolbear AE. 1897. The Cricket as a Thermometer. In The American Naturalist , Nov., 1897, Vol. 31, No. 371 (Nov., 1897), pp. 970-971.
- Frings H, Frings M. (1957), The effects of temperature on chirp-rate of male cone-headed grasshoppers, *Neoconocephalus ensiger*. J. Exp. Zool., 134: 411-425.
- Hedwig B. 2006. Pulses, patterns and paths: neurobiology of acoustic behaviour in crickets. J Comp Physiol A 192.
- Loher W, Dambach M. 1989. Reproductive behavior. In: Cricket Behavior and Neurobiology. Cornell University Press.
- Pires A, Hoy RR. 1992. Temperature coupling in cricket acoustic communication – I. Field and laboratory studies of temperature effects on calling song production and recognition in *Gryllus firmus*. J Comp PhysiolA 171:69-78.
- Schöneich S, Kostarakos K, Hedwig B. 2015. An auditory feature detection circuit for sound pattern recognition. Sci. Adv. 2015;1:e1500325.
- Walker TJ, Masaki S. 1989. In Cricket Behavior and Neurobiology. p. 8. Huber F, Loher W, Moore TE (Eds). Cornell University Press.