

Características físicas de las llamadas de estrés en seis especies de murciélagos cubanos, utilizando un sistema de grabación Bruel and Kjaer.

Physical characteristics of the distress calls on six Cuban bats specieses, using a Bruel and Kjaer recording system.

Jose Manuel de la Cruz Mora¹, Emanuel C. Mora² y Silvio Macias²

¹. - Museo de Historia Natural "Tranquilino Sandalio de Noda": ECOVIDA. Dirección: Calle Martí No 202 Esquina Comandante Pinares, Pinar del Río. CP. 20100. Teléfono: 779483 o 753087. Email: delacruz@mhn.vega.inf.cu

².- Departamento de Biología Animal y Humana, Facultad de Biología, Universidad de la Habana, calle 25 No. 455 entre J e I, Vedado, CP. 10 400, Ciudad de La Habana, Cuba.

Fecha de recepción: 15 de marzo de 2016

Fecha de aceptación: 27 de junio de 2016

RESUMEN. Las llamadas de estrés son producidas por los murciélagos cuando se encuentran bajo coacción física y representan el grupo menos estudiado dentro del amplio repertorio vocal de los murciélagos. En este trabajo fueron caracterizadas las llamadas de estrés de seis especies de murciélagos cubanos. Los individuos seleccionados pertenecen a tres familias diferentes (Molossidae, Mormoopidae y Phyllostomidae), permitiendo conocer las características más significativas de cada una de las mismas y de las especies que las componen. Para el estudio fue utilizado un micrófono (Bruel and Kjaer, ¼ pulgada modelo 4135) sensible en las frecuencias entre 20 Hz y 100 kHz. Los resultados mostraron que las características físicas de las llamadas de estrés de las especies *seleccionadas*, registradas con un sistema de grabación con respuesta espectral plana presentan diferencias significativas entre especies, en la mayor parte de los parámetros analizados. La gran variabilidad presente en la estructura espectral y temporal de las llamadas de estrés demuestra gran diversidad, tanto interespecífica como intraespecífica, dentro de la fauna de murciélagos de Cuba.

Palabras claves: llamadas de estrés, murciélagos, Bruel and Kjaer, equipamiento de grabación, frecuencia mínima

ABSTRACT. The bats produce the distress calls when they are under physical coercion and they represent the less studied group inside the wide vocal bats repertoire. In this work, the distress calls of six Cuban bats species were characterized. The selected individuals belong to three different families (Molossidae, Mormoopidae and Phyllostomidae), allowing to know the most significant characteristics of each one of the same ones and of the species that compose them. For the study a microphone was used (Bruel and Kjaer, ¼ inch model 4135) sensitive in the frequencies between 20 Hz and 100 kHz. The results showed that the physical characteristics of the calls of distress of the selected species present significant differences, between species, in most of the analyzed parameters. The great present variability in the ghastry structure and storm of the distress calls demonstrates great diversity, as much interspecific as intraspecific, inside the fauna of bats of Cuba.

Key words: distress calls, bats, Bruel and Kjaer, recording equipment, minimum frequency

INTRODUCCIÓN

La gran radiación adaptativa de los quirópteros es evidencia de su éxito evolutivo (Silva, 1979). Para explotar la navegación aérea nocturna este orden de mamíferos ha combinado el vuelo con un sistema activo de orientación denominado ecolocalización (Griffin, 1958). Mientras ecolocalizan, los murciélagos emiten llamadas de alta frecuencia y corta duración, y reciben los ecos que se forman en los objetos del medio para orientarse y localizar a sus presas en la oscuridad (Neuweiler, 2000; Jones, 2007; Waters, 1995).

Dado que estas llamadas también transmiten información sobre el emisor, en ocasiones se incluyen en el repertorio de llamadas de comunicación de los murciélagos (Barclay, 1983). Sin embargo, en el amplio repertorio de emisiones acústicas, audibles y ultrasónicas, que han desarrollado los murciélagos durante su evolución en ambientes oscuros existen otras vocalizaciones que tienen solo función social y median estrictamente la comunicación entre individuos (Griffin, 1958; Ajrapetjants, 1973; Brinkløv, 2009). En condiciones de disturbio o excitación física, como ocurre cuando un depredador atrapa a un murciélago, estos animales cambian sus patrones de emisión de llamadas y comienzan a proyectar llamadas que se perciben como de alta intensidad, larga duración, amplia gama de frecuencias y que contienen componentes de energía inferiores a 20 kHz (Mora, 2008). Dentro de las llamadas sociales de este grupo, las llamadas de estrés están entre las menos estudiadas.

Entre los pocos trabajos que han tratado la descripción de las características físicas de las llamadas de estrés en murciélagos sobresalen los realizados por August (1985) y Russ *et al.* (1998, 2004). Los autores describen estas llamadas como trenes de elementos de frecuencia modulada descendente y de corta duración, por lo que plantean una supuesta convergencia estructural entre las llamadas de estrés. Sin embargo, en estos estudios no se han realizado análisis detallados de las características físicas de estas señales, en parte debido a que los estudios de August se limitan a los componentes audibles de las llamadas, mientras que los de Russ y colaboradores se limitan a los componentes ultrasónicos.

En Cuba, las características físicas de las llamadas de estrés de murciélagos han sido estudiadas por Rojas (2008), quien describió las llamadas de estrés de 24 especies de

murciélagos de ocho familias, resultado que constituye el más amplio estudio relacionado con llamadas de estrés, hasta la fecha. Aun cuando las descripciones de las llamadas que ofrece esta investigación son detalladas, se utiliza un detector de murciélagos (U30 UltraSound Advice) con filtraje espectral pasa-alto por encima de 15 kHz que favorece la grabación de los componentes ultrasónicos de las llamadas, pero que presenta una pérdida considerable en las bajas frecuencias, que es donde están representados los máximos niveles de energía de este tipo de las llamadas de estrés.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron para el estudio seis especies de murciélagos cubanos que se distribuyen en tres familias pertenecientes al suborden Microchiroptera. Las especies estudiadas fueron: *Brachyphylla nana*, *Phyllonycteris poeyi* y *Artibeus jamaicensis* (familia Phyllostomidae), *Mormoops blainvillei* y *Pteronotus parnellii* (familia Mormoopidae) y *Molossus molossus* (familia Molossidae).

Los murciélagos se capturaron en distintas localidades de la provincia La Habana y Ciudad de La Habana, entre los meses de febrero y abril del 2010. Según las características de las colonias y las vías de acceso a estas, se utilizaron distintos métodos de captura, como la colocación de mayas de niebla y utilizando la técnica de jameo.

Las llamadas de estrés fueron grabadas utilizando un micrófono (Bruel and Kjaer, ¼ pulgada modelo 4135) con respuesta espectral de ± 3 dB entre 20 Hz y 100 kHz conectado a través de una tarjeta de alta frecuencia de muestreo (NI-DAQ 6062E) a una computadora portátil. El programa utilizado para el registro de las vocalizaciones fue el Avisoft-RECORDER Pro 4.39 (Avisoft, Berlin, Germany). Se utilizó una frecuencia de muestreo de 200 kHz, y se grabó utilizando 12 bits y un solo canal de muestreo.

Se grabaron las llamadas de estrés de 15 individuos de *B. nana*, 15 de *P. poeyi*, 12 de *A. jamaicensis*, 11 de *M. blainvillei*, 12 de *P. parnellii* y 11 de *M. molossus*. En todas las especies se grabaron individuos de ambos sexos. Los registros se efectuaron en lugares cercanos a los sitios de colecta de los ejemplares, mediando un tiempo no mayor de 30

minutos entre la captura del animal y el momento de la grabación. Posterior al registro de las llamadas de estrés se grabaron ficheros con una señal de referencia para la calibración del sistema de grabación en intensidad. La señal consiste en un tono puro continuo de 1 kHz y 94 dB SPL (siglas en inglés de Sound Pressure Level, Nivel de Presión de Sonido; 0 dB SPL = 20 μ Pa) que genera un pistófono B&K (modelo 4235). El nivel de amplificación del preamplificador B&K (modelo 2670) se fijó en 316 mV/Pa para todas las grabaciones.

Las llamadas de estrés se obtuvieron sujetando al murciélago por la nuca, gentilmente y con firmeza. El micrófono se colocó paralelo al suelo a una distancia de un metro del animal, evitando saturaciones en los registros. En todos los casos se tuvo cuidado de sujetar al animal justo enfrente del micrófono, a 0 grados de desviación en los ejes horizontal y vertical. Los programas utilizados para realizar las grabaciones permiten visualizar simultáneamente los oscilogramas (variaciones de la amplitud de las señales en el tiempo) y los espectrogramas (variaciones de la frecuencia en el tiempo) de las llamadas grabadas, con lo cual se pudo comprobar la calidad de la señal. El tiempo de manipulación no excedió los 60 segundos en ninguno de los casos y se obtuvo un total de 110 registros entre todos los individuos grabados.

Las llamadas de estrés fueron caracterizados utilizando el programa Avisoft SASLab Pro versión 4.4. Las variaciones de la frecuencia en el tiempo, observadas en los espectrogramas, se obtuvieron a través de transformadas rápidas de Fourier (FFT) consecutivas. Para lograr el mayor equilibrio entre las resoluciones espectrales y temporales, en todos los casos se seleccionó una longitud de la FFT de 512 puntos, ventanas de tipo Hamming y un 99% de superposición. Esto permitió obtener una resolución espectral de 86 Hz y una resolución temporal de 0.18 ms para todas las señales. La detección de las llamadas se realizó mediante dos umbrales, el primero de ellos detecta las llamadas y el segundo determina el comienzo y el final de cada llamada detectada. Este segundo umbral nos permitió realizar el análisis espectral y temporal de las llamadas de estrés a 20 dB por debajo del pico de máxima amplitud. A partir de los espectrogramas se calcularon los espectros de potencias (amplitudes de todos los componentes de frecuencia de la señal) de cada llamada.

Sobre el espectro promedio de cada llamada se midieron las variables duración, intervalo entre llamadas, frecuencia pico, frecuencia máxima, frecuencia mínima, ancho de banda y

entropía, la que fue calcula como la razón de la media geométrica y la media aritmética del espectro y Permite cuantificar el desorden (o la pureza) de la llamada. Teóricamente toma valores entre cero (tonos puros) y uno (ruido al azar).

El análisis estadístico de los datos se realizó utilizando el programa Statistica 6.0. Para cada variable se determinaron los valores mínimo y máximo, y se calcularon la media aritmética y la desviación estándar como estadísticos de tendencia central y de dispersión, respectivamente. Los valores se promediaron para cada individuo a partir de las mediciones realizadas a sus llamadas. Estos nuevos valores se utilizaron en los análisis estadísticos.

Para comprobar si los datos se ajustan a una distribución normal y si presentaban homogeneidad de varianza se realizaron las pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y de homogeneidad de varianza de Levene y de Brown y Forsyth, respectivamente.

El análisis de varianza de clasificación simple (ANOVA) y la prueba de comparaciones múltiples Student-Newman-Keuls (SNK) permitieron detectar si existían diferencias significativas en las características temporales y espectrales de las llamadas de estrés entre especies. Los pares de medias se compararon mediante una prueba t - Student de comparación de medias. La posible correlación entre dos variables se evaluó a través del análisis de Pearson. El nivel de significación utilizado en todos los casos fue de $p < 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características espectrales y temporales de las llamadas de estrés de las seis especies estudiadas fueron colocadas en tablas con el objetivo de identificar los valores máximos y mínimos, así como los que se presentan constantes entre especies, como se muestra en la **Tabla I**.

Las llamadas de estrés de las seis especies estudiadas presentan una gran variabilidad de diseños espectro-temporales. Sin embargo, las semejanzas descritas entre algunas de estas especies pudieran ser explicadas por las reglas que rigen la estructura física de la comunicación acústica y la mejora de la señal para la localización del emisor propuestas por

Morton (1975). Una de estas semejanzas radica en la existencia de un amplio ancho de banda desplazado hacia las bajas frecuencias. Se ha descrito que los sonidos de altas frecuencias son direccionales y atenuados rápidamente por la absorción molecular del aire y por la dispersión que sufren en los objetos del medio (Morton, 1975). En consecuencia, las llamadas de frecuencias más bajas son ideales para la transmisión de mensajes a largas distancias debido a la disminución del efecto de atenuación atmosférica (Morton, 1975).

Los estudios que han descrito llamadas de estrés dentro del repertorio comunicativo de algunas especies de murciélagos (Fenton *et al.*, 1976; August, 1979; August, 1985; Ryan *et al.*, 1985; Russ *et al.*, 1998, 2004; Rojas, 2008), evidencian que en las comunidades de murciélagos los individuos receptores pueden desplazarse hacia el individuo emisor. Por tanto, la estructura de estas llamadas debe permitir que se transmitan a largas distancias y que favorezcan la localización del emisor.

Las llamadas de *Artibeus jamaicensis* fueron de larga duración (109.56 ms). La frecuencia pico alcanzó valores de 31.3 kHz. El valor promedio de la frecuencia mínima fue relativamente bajo (2.5 kHz), mientras que la frecuencia máxima osciló entre 31 y 65 kHz. El ancho de banda en esta especie presentó valores que oscilaron entre los 27.5 y 60.7 kHz (**Tabla I**).

Brachyphylla nana emite llamadas de estrés formadas por sílabas discretas con una duración entre 67 y 102 ms y relativamente bajos valores de frecuencia pico. Las frecuencias mínima y máxima de estas vocalizaciones oscilaron entre 8.0 y 50.3 kHz, respectivamente, y el ancho de banda varió entre 16.9 y 44.6 kHz (**Tabla I**).

Las llamadas de estrés del murciélago de las cuevas calientes (*Phyllonycteris poeyi*) consistieron mayormente en sílabas discretas presentadas en trenes. La frecuencia mínima de estas vocalizaciones se mantuvo alrededor de 7.1 kHz, mientras que la variación en la frecuencia máxima fue mayor, con valores entre 82 y 90 kHz. La duración de estas vocalizaciones varió entre 62.75 y 143.13 ms y la frecuencia pico promedio fue 29 kHz. El ancho de banda osciló entre 44.0 y 58.0 kHz (**Tabla I**).

Mormoops blainvillei emite llamadas de estrés formadas por sílabas discretas y por series de sílabas, con una duración promedio de 67.47 ms. La frecuencia mínima, máxima, y el ancho de banda promedios alcanzaron valores alrededor de 16.13, 93.26 y 77.13 kHz, respectivamente. La frecuencia pico osciló entre 26.2 y 51.1 kHz (**Tabla I**).

En *Pteronotus parnellii* llamadas de estrés consistieron en sílabas aisladas con una duración relativamente larga y variable (entre 111 y 255 ms). El ancho de banda, aunque amplio, se mantuvo dentro de una gama estrecha de valores (entre 76.0 y 83.3 kHz). Por su parte la frecuencia pico y máxima conservaron rangos de variación también pequeños, (entre 21.4 y 37.3 kHz y 82.9 y 90.4 kHz, respectivamente). La frecuencia mínima se mantuvo oscilando alrededor de 7.1 kHz (**Tabla I**).

Molossus molossus emite llamadas de estrés con una duración promedio de 61.37 ms, que consisten en una serie de sílabas discretas dispuestas en trenes. En todos los casos la frecuencia pico fue mayor que 27.8 kHz, mientras que la frecuencia mínima se encontró en una gama entre 8.8 a 19.6 kHz. La frecuencia máxima y el ancho de banda tomaron valores promedio de 82.91 y 67.7 kHz, respectivamente (**Tabla I**).

La coincidencia de diseños espectro-temporales y las semejanzas estructurales de las llamadas de estrés en murciélagos, encontrados en la mayoría de los estudios realizados, han sido explicadas a partir de las limitaciones físicas para la propagación de las señales acústicas en la atmósfera. A partir de estos principios August (1985) y Russ et al. (1998, 2004) explican las semejanzas estructurales en las llamadas de estrés encontradas en las especies estudiadas. Las llamadas de estrés de las seis especies involucradas en el presente estudio, presentan características que les permiten la transmisión a largas distancias y la localización de la fuente emisora de sonido.

Todas las especies estudiadas emiten llamadas de estrés con frecuencias mínimas de emisión por debajo de 16 kHz, adecuadas para la comunicación a largas distancias. Comparadas con las señales de ecolocalización de las propias especies, las llamadas de estrés se caracterizan por mayores duraciones, por lo que ganan un potencial comunicativo que está limitado en la

ecolocalización, precisamente, por la propia estructura física de llamadas que son muy direccionales, de corta duración y alta frecuencia.

A excepción del estudio de Rojas (2008), la mayoría de las investigaciones realizadas hasta el momento (Fenton *et al.*, 1976; August, 1979, 1985; Russ *et al.*, 1998, 2004) no ofrecen una descripción detallada de las llamadas de estrés, y se centran en las semejanzas generales, como son ancho de banda y duración de la llamada, para describir las respuestas heteroespecíficas encontradas por ellos en experimentos de reclamo. En el estudio realizado por Rojas (2008) y en el presente estudio, las semejanzas encontradas en las llamadas de estrés son atribuidas, también, a variables que reflejan las leyes de transmisión del sonido y las reglas propuestas por Morton (1977), como pudieran ser las bajas frecuencias, y el carácter ruidoso de las señales dados los elevados valores de entropía.

Sin embargo, las diferencias estructurales encontradas en las llamadas de estrés, incluso en las variables antes mencionadas, y la gran variedad de diseños espectro-temporales, demuestran la alta diversidad que presentan estas vocalizaciones.

Tabla I. Características físicas de las llamadas de estrés de seis especies de murciélagos cubanos. Las unidades de medida son: milisegundos para la duración, dB SPL para la intensidad y kilohercios para los valores de frecuencia y ancho de banda. Para cada especie se indica el número de individuos (*n*) y para cada variable se presenta la media aritmética y la desviación estándar y, entre paréntesis, los valores mínimo y máximo.

	<i>Brachyphylla nana</i> (<i>n</i> = 10)	<i>Phyllonycteris poeyi</i> (<i>n</i> = 9)	<i>Artibeus jamaicensis</i> (<i>n</i> = 8)	<i>Mormoops blainvillei</i> (<i>n</i> = 7)	<i>Pteronotus parnellii</i> (<i>n</i> = 10)	<i>Molossus molossus</i> (<i>n</i> = 10)
Duración	80.4 ± 9.44 c (67.2 – 96.7)	105.91 ± 12.86 b (81.03 – 121.91)	94.38 ± 19.39 bc (57.78 – 119.43)	76.68 ± 26.67 c (43.83 – 126.36)	144.13 ± 25.89 a (103.8 – 185.1)	57.63 ± 7.88 d (44.92 – 69.01)
Intervalo entre llamadas	170.7 ± 22.14 c (136.1 – 204.52)	228.81 ± 23.44 bc (180.02 – 266.84)	263.46 ± 83.44 b (167.56 – 415.88)	355.98 ± 173.22 a (223.52 – 724.59)	292.78 ± 39.42 ab (240.88 – 373.09)	152.49 ± 17.96 c (128.59 – 193.42)
Frecuencia pico	8.52 ± 0.80 d (7.34 – 9.52)	17.121 ± 4.68 c (10.23 – 25.69)	14.88 ± 8.31 c (6.67 – 33.06)	38.92 ± 8.15 a (24.81 – 48.28)	27.86 ± 4.41 b (21.82 – 32.51)	42.22 ± 7.54 a (29.99 – 51.42)
Frecuencia mínima	5.81 ± 0.59 c (4.93 – 6.99)	6.02 ± 1.05 c (4.99 – 7.85)	2.54 ± 0.43 d (1.45 – 2.86)	16.84 ± 2.99 a (10.52 – 19.54)	7.22 ± 1.01 c (6.24 – 9.52)	15.17 ± 1.86 b (12.52 – 17.87)
Frecuencia máxima	37.02 ± 10.09 e (23.87 – 53.98)	60.57 ± 2.54 cd (56.68 – 64.11)	58.59 ± 5.21 d (50.09 – 68.23)	94.25 ± 2.19 a (89.67 – 96.31)	85.47 ± 2.27 b (82.41 – 90.02)	82.76 ± 5.96 bc (68.37 – 89.29)
Ancho de banda	31.209 ± 9.93 d (18.74 – 47.82)	45.55 ± 2.67 c (51.41 – 59.08)	56.04 ± 5.16 c (47.36 – 65.65)	77.41 ± 1.70 (75.62 – 80.22)	78.25 ± 2.89 (72.89 – 83.61)	67.59 ± 5.62 b (55.85 – 75.28)
Entropía	0.4 ± 0.03 d (0.4 – 0.48)	0.61 ± 0.02 c (0.57 – 0.64)	0.57 ± 0.05 c (0.47 – 0.64)	0.67 ± 0.04 a (0.60 – 0.75)	0.76 ± 0.03 a (0.69 – 0.82)	0.7 ± 0.04 b (0.63 – 0.75)

CONCLUSIONES

Las características físicas de las llamadas de estrés de las especies *seleccionadas*, registradas con un sistema de grabación con respuesta espectral plana (± 3 dB) entre 0.02 y 100 kHz, presentan diferencias significativas, entre especies, en la mayor parte de los parámetros analizados.

La gran variabilidad presente en la estructura espectral y temporal de las llamadas de estrés demuestra gran diversidad, tanto interespecífica como intraespecífica, dentro de la fauna de murciélagos de Cuba.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ajrapetjants ES, Konstantinov AI (1973) Echolocation in animals. Editorial Nauka, Leningrado. 309 pp.
- August, P. V. 1985. Acoustical properties of the distress calls of *Artibeus jamaicensis* and *Phyllostomus hastatus* (Chiroptera: Phyllostomidae). *The Southwestern Naturalist* 30 (3): 371–375.
- Barclay RMR (1983) Echolocation calls of emballonurid bats from Panama. *J Comp Physiol A*. **151**: 515-520.
- Brinkløv S, Kalko EKV, Surlykke A (2009). Intense echolocation calls from two ‘whispering’ bats, *Artibeus jamaicensis* and *Macrophyllum macrophyllum* (Phyllostomidae). *J Exp Biol* **212**, 11-20.
- Fenton MB (1994) Echolocation: its impact on the behaviour and ecology of bats. *EcoScience* **1**(1): 21-30.
- Griffin DR (1958) *Listening in the dark*. Yale University Press, New Haven. 413 pp.
- Jones G, Holderied MW (2007) Bat echolocation calls: adaptation and convergent evolution. *Proc. R. Soc. B*. **274**: 905-912.
- Mora EC, Torres L (2008). Sound emission in the big Cuban molossid bats *Eumops glaucinus* and *Nyctinomops macrotis*. *Zoological Sciences* **25**(1): 6-13.
- Morton, E.S. (1975). Ecological sources of selection on avian sounds. *Am. Nat.*, 109: 17- 34.
- Neuweiler G (2000) *The biology of bats*. Oxford University Press, Oxford, 310 pp.
- Rojas, D. 2008. Análisis de las características espectrales y temporales de las llamadas de estrés de 24 especies de murciélagos cubanos y japoneses. Tesis en opción al grado de Master en Ciencias, Facultad de Biología, Universidad de la Habana.
- Russ, J. M., G. Jones and P. A. Racey. 1998. Intraspecific responses to distress calls of the pipistrelle bat, *Pipistrellus pipistrellus*. *Animal Behaviour* 55:705-713.
- Russ, J. M., G. Jones, I. J. Mackie and P. A. Racey. 2004. Interspecific responses to distress calls in bats (Chiroptera: Vespertilionidae): a function for convergence in call design? *Animal Behaviour* 67:1005-1014.
- Silva G (1979) *Los murciélagos de Cuba*. Editorial Academia, La Habana, 423 pp.
- Waters DA, Jones G (1995) Echolocation call structure and intensity in five species of insectivorous bats. *J Exp Biol* **198**: 475-489.