



DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

A importância e significado da comunicação vocal na milheirinha (*Serinus serinus*)

Dissertação apresentada à Universidade de Coimbra para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor em Biologia, especialidade de Ecologia, realizada sob a orientação científica do Professor Doutor Paulo Gama Mota (Universidade de Coimbra)

Ana Teresa Mamede

2012

CONTEÚDOS

SUMÁRIO.....	v
ABSTRACT	vii
AGRADECIMENTOS	ix
NOTA PRÉVIA	xi
CAPÍTULO 1	
Introdução geral.....	1
CAPÍTULO 2	
Metodologias gerais.....	33
CAPÍTULO 3	
Variação inter-anual limitada do canto da milheirinha (<i>Serinus serinus</i>).....	41
CAPÍTULO 4	
As diferenças no canto não reflectem diferenças no tamanho corporal entre machos de duas espécies de aves canoras	67
CAPÍTULO 5	
Resposta vocal dos machos da milheirinha, <i>Serinus serinus</i> , a desafios com playbacks interactivos	95
CAPÍTULO 6	
Efeito do ruído antropogénico no canto da milheirinha, <i>Serinus serinus</i>	121
Conclusões.....	141

SUMÁRIO

A comunicação vocal nas aves, particularmente nas aves canoras, é extremamente importante e complexa, sendo as suas funções principais a atração de par e defesa de recursos.

A milheirinha, *Serinus serinus*, é um pequeno passeriforme com um sistema de comunicação vocal facilmente reconhecível pelas suas características peculiares, distinguindo-se pela sua rapidez e elevada gama de frequências. O canto desta espécie evoluiu por selecção intra e inter-sexual.

O objectivo desta tese foi determinar os padrões de variação temporal do repertório nesta espécie e quais as características do canto que veiculam informação relevante na comunicação, passíveis de ser sexualmente seleccionadas. Recorrendo a gravações e técnicas de playback, esta tese debruçou-se sobre questões relacionadas com o desempenho do canto enquanto resposta a um possível rival ou simplesmente com as suas características em contexto de época reprodutiva.

Relativamente ao significado do conteúdo comunicacional e à evolução dos sistemas de comunicação, pretendemos responder às seguintes questões: 1) houve alterações temporais no canto e qual ou quais os padrões apresentados? 2) o desempenho vocal é um indicador de qualidade? 3) a sobreposição ou alternância do canto reflecte algum tipo de variação nas características do canto como resposta a um estímulo? 4) qual a influência do ruído antropogénico nas características do canto?

O estudo da alteração do canto em aves adultas, ao longo de duas épocas reprodutivas, revelou uma variação muito limitada. Verificou-se ter havido apenas algumas alterações ao nível da sintaxe e do repertório, embora a estrutura base das canções tenha

permanecido inalterada. Também se verificou uma elevada consistência dos parâmetros analisados, quer das canções quer das sílabas, entre épocas reprodutivas.

Não encontramos nenhuma relação significativa na análise comparativa entre as características do canto e os dados morfológicos, o que sugere que não há uma relação directa entre a condição física dos machos e o desempenho vocal.

A percepção do canto quando sobreposto ou alternado, gerou uma resposta diferente que pode estar relacionada com um sinal de agressividade. Os machos, quando expostos à sobreposição do canto de outros indivíduos da mesma espécie, cantaram canções mais curtas mas com intervalos maiores. Estes resultados sustentam a importância do desempenho vocal na comunicação entre indivíduos, durante a época reprodutiva.

Um outro aspecto abordado nesta tese foi a influência do ruído provocado pela actividade humana nas características do canto das milheirinhas. Verificámos que a frequência mínima aumentou em situações de maior ruído. Isto mostra que o canto desta espécie poderá evoluir por condicionamentos ambientais.

ABSTRACT

Vocal communication in birds, particularly in songbirds, is extremely important and complex and its basic functions are pair attraction and resources defense.

The serin, *Serinus Serinus*, is a small passerine with a vocal communication system easily recognizable by their unique characteristics, distinguishing itself by its speed and high frequency range. This specie's song has evolved by intra-and inter-sexual selection.

The aim of this study was to determine the patterns of temporal variation of the repertoire in this species and which features of song convey relevant information in communication, which may be sexually selected. Using recordings and playback techniques, this thesis focused on issues related to the performance of the song as a response to a potential rival or simply on its characteristics in breeding season context.

As for the meaning of the communication content and the evolution of communication systems, we intend to answer the following questions: 1) were there temporal changes in song and, if so, what was the pattern? 2) can vocal performance be used as an indicator of quality? 3) does overlapping or alternating songs reflect some kind of variation in song features in response to a stimulus? 4) what is the influence of anthropogenic noise in song features?

The study of song changes in adult birds over two breeding seasons revealed a very limited variation. It was found that there had been a few changes in syntax and repertoire, although song basic structure remained unchanged. We also found a high consistency of the parameters measured, either for songs or syllables, between breeding seasons.

We did not find any significant relationship in a comparative analysis of song features and morphological data, which suggests there isn't a strict relationship between male condition and his vocal performance.

The perception of song when overlapped or alternated, generated a different response that may be related to a sign of aggression. When exposed to song overlap from other individuals of the same species, males tended to increase singing rate by shortening song intervals. These results indicate that vocal performance plays an important role in communication between individuals.

Another aspect addressed in this thesis was the influence of noise caused by human activity on serin song features. We found that minimum frequency increased when noise was high. This shows that this species's song may evolve by environmental constraints.

AGRADECIMENTOS

Agradecer a todos aqueles que tornaram possível a realização do trabalho que conduziu a esta tese é uma tarefa quase tão grande como escrever a própria tese. É muito difícil fazê-lo em poucas linhas e fez-me reviver muitos dos momentos que aconteceram durante todos estes anos, alguns já arrumados na memória, outros ainda tão presentes.

Em primeiro lugar quero agradecer ao meu orientador, Professor Doutor Paulo Gama Mota, por me ter aceite como sua orientanda. Seguiu-se um longo caminho de disponibilidade, persistência e paciência, com revisões críticas, comentários, opiniões, esclarecimentos e sugestões. Pelo papel determinante nos momentos chave deste processo, o meu mais profundo agradecimento.

Agradeço à minha família, mãe, tio e avô, pela minha educação e pelo incentivo que me proporcionaram no percurso que agora trilho.

Não posso deixar de agradecer a grande companhia e compreensão pelas horas roubadas, em especial à minha filha e à minha mãe.

Muito especialmente, agradeço à minha filha o apoio moral e o companheirismo, nos momentos de maior aperto.

A todos os colegas e amigos, de campo e de laboratório, Vio, Luís, Gonças, Sonha, Cris, Gegé, Sandrinha, Paulinho, Belinha, Ana, Caterina, por toda a ajuda na realização deste trabalho e pela boa disposição partilhadas.

Aos vizinhos de laboratório, Vítor, Filipa, Célia, por partilharem a janela.

Tenho também de agradecer a todas as pessoas extraordinárias que conheci durante o trabalho de campo, especialmente ao Pastor Manuel “Caneja” e sua esposa, por todo o

apoio, sabedoria popular, protecção e ajuda sempre que era necessário “remendar” alguma coisa ou escolher um novo sítio ou conhecer o dono de algum terreno; ao Paulo do café, por todas as madrugadas nos proporcionar uma dose desse estimulante que nos mantinha acordados; ao nosso vizinho Sr Albertino que todos os inícios de época de campo ficava feliz com a nossa chegada porque sabia que vinha aí a Primavera.

Agradeço à Secretaria Regional da Educação da Madeira e ao Ministério da Educação, por me possibilitarem a dedicação total a este trabalho, através do suporte financeiro concedido.

NOTA PRÉVIA

A realização da presente tese deu origem à elaboração de dois artigos já publicados e ainda dois outros artigos em elaboração.

Fui a principal responsável pela elaboração de todos os trabalhos referidos, à excepção do artigo “Song Frequency Does Not Reflect Differences in Body Size among Males in Two Oscine Species”, do qual apenas sou responsável pelos dados respeitantes à milheirinha, *Serinus serinus*, tendo colaborado com o primeiro autor na análise dos dados e escrita.

O trabalho já publicado e que constitui o capítulo 4 é:

Gonçalo CC, **Mamede AT**, Atwell JW, Mota PG, Ketterson ED, Price TD. 2008. Song Frequency Does Not Reflect Differences in Body Size among Males in Two Oscine Species. *Ethology*. 114:1084-1093.

O trabalho já publicado e que constitui o capítulo 3:

Mamede AT, Mota PG. 2012. Limited inter-annual song variation in the serin (*Serinus serinus*) *Ethology* 118:1157–1164.

Os trabalhos em fase de preparação para submissão são:

- Vocal response of male serins, *Serinus Serinus*, when challenged with interactive playbacks.
- Effect of anthropogenic noise in serin (*Serinus serinus*) song.

CAPÍTULO 1

Introdução geral

*Hear us, you who are no more than leaves always falling, you mortals benighted by nature,
You enfeebled and powerless creatures of earth always haunting a world of mere shadows,
Entities without wings, insubstantial as dreams, you ephemeral things, you human beings:
Turn your minds to our words, our etherial words, for the words of the birds last forever.*

The Birds, Aristophanes, 414 AC

Processos de aprendizagem do canto

A comunicação entre os seres vivos é indiscutivelmente muito importante para a sua sobrevivência. No mundo animal a comunicação é particularmente persistente, variada, rápida e intensa. Define-se aqui comunicação como a transmissão de informação entre um emissor e um receptor, através de um sinal, visando modificar ou condicionar o comportamento do receptor (Bradbury e Vehrencamp 1998).

Uma das formas de comunicação mais complexas e também mais eficazes é a comunicação vocal. Esta pode ter origem genética ou ser aprendida. A aprendizagem está evolvida na comunicação vocal numa grande variedade de grupos de animais, incluindo aves (Kroodsma e Miller 1996, Slater 1989), cetáceos (Boran e Heimlich 1999), primatas não-humanos (Savage-Rumbaugh et al. 1985) e, naturalmente, humanos (Pinker 1984, Chomsky 1957).

A comunicação vocal em aves tem merecido intensa investigação nos últimos cinquenta anos (Catchpole e Slater 1995; Kroodsma e Miller 1996; Slater 2003, Marler e Slabbekoorn 2004), tendo-se tornado mesmo no modelo animal mais frequentemente usado para a compreensão da comunicação vocal na nossa espécie (Brainard e Doupe 2002, Jarvis 2004b, Scharff e Petri 2011).

Existe uma enorme diversidade de formas de aprendizagem do canto em aves. O período de aprendizagem pode variar bastante entre espécies, ocorrendo apenas durante as primeiras semanas de vida (*Taeniopygia guttata*), até o final do primeiro ano (*Passerina cyanea*) ou durante toda a vida (*Parus major*). O resultado destas diferenças reflecte-se no tamanho e complexidade do repertório (Beecher e Brenowitz 2005; Nottebohm 1984).

O processo de aprendizagem do canto em aves pertencentes à sub-ordem dos Oscineos ou aves canoras, apesar das diferenças entre espécies, tem aspectos comuns. Quando nascem, as jovens aves ouvem e memorizam o canto de adultos, tutores, durante um período sensível. Mais tarde, numa fase sensorial-motora, reproduzem e aperfeiçoam o que memorizaram através de um processo de tentativa e erro, pelo que é fundamental o feedback auditivo (Brainard e Doupe 2002, Catchpole e Slater 1995, Hultsch e Todt 2004, Kroodsma 2004). No início desta última fase os sons são atenuados e pouco desenvolvidos, tornando-se progressivamente mais parecidos com os originais (Marler e Peters 1982). Relativamente ao período de aprendizagem, podemos distinguir dois grupos: aves de “aprendizagem aberta” (*open-ended-learners*), que modificam o canto durante toda a vida através da aprendizagem de novas canções ou sílabas; aves de “aprendizagem fechada” ou “limitada” (*closed-ended-learners, age-limited-learners*), que não modificam o canto após o 1º ano de vida. Para além destes, existem outros modelos de aprendizagem do canto em aves canoras como por exemplo a quantidade de canções/sílabas que as diferentes espécies de aves conseguem aprender e aqueles que estão relacionadas com a precisão com que os indivíduos reproduzem os sons que memorizam (Beecher e Brenowitz 2005, Nottebohm 1984).

Com o crescente número de estudos sobre a aprendizagem do canto em aves canoras, surgiram duas hipóteses sobre o seu valor adaptativo: a hipótese do repertório, que realciona a vantagem reprodutiva dos indivíduos em aprender um número elevado de canções/sílabas por ser vantajoso na atracção do par (Searcy e Anderson 1986); e a hipótese de partilha, que realça o aumento de comunicabilidade entre vizinhos (Beecher e Brenowitz 2005).

Neurofisiologia do canto

O canto das aves canoras, tal como a linguagem em humanos, depende da capacidade de imitar sons transmitidos culturalmente (Doupe e Kuhl 1999). Esta capacidade extraordinária deve-se aos programas genéticos de aprendizagem e à arquitetura do cérebro (Brainard e Doupe 2002).

O aparelho fonador das aves é a siringe, que consiste num conjunto simétrico de membranas localizadas entre a traqueia e os brônquios e um conjunto de músculos associados que permitem deformar, alargar e estreitar os diversos canais para a produção dos sons (Suthers e Zollinger 2004). A siringe é uma estrutura complexa que possibilita a produção de uma variedade grande de sons, inclusivamente com modelação independente por duas vias, que permite a produção de vários sons simultaneamente (Nottebohm 1999), exibindo ainda lateralidade na produção das frequências pelos dois lados da siringe (Suthers 2004).

O controlo desta musculatura é feito ao nível do cérebro, onde existe um conjunto de regiões responsáveis pela aprendizagem, pela produção e pelo reconhecimento do canto (Konishi 1985, Nottebohm 1976). O estudo do desenvolvimento dos centros nervosos responsáveis pelo canto em Oscíneos possibilitou a compreensão da sua neurogénese (Nottebohm 1981, Nottebohm et al. 1987, Kim e DeVogd 1989, Goldman e Nedergaard 1992, Jarvis 2004). A complexidade do canto, ao nível interespecífico, está relacionada com o volume de alguns dos centros nervosos (DeVoogd et al. 1993), embora mais recentemente se tenha descoberto a activação de células nervosas fora dos centros designados por “sistema de canto” e que parecem estar relacionadas com a percepção auditiva e memorização do canto aprendido (Bolhuis e Fujiwara 2003). Apesar de existir uma variação do volume em alguns desses centros em aves criadas em diferentes

condições de isolamento acústico, não se verifica qualquer alteração no volume após as condições serem restabelecidas e o repertório das aves ter normalizado (Leitner e Catchpole 2007). Nos canários (*Serinus canaria*), existe uma variação sazonal do volume do HVC (centro vocal superior), e do RA (núcleo robusto do arcopálio) (Nottebohm 1981), dois conjuntos de neurónios responsáveis pelo controle da produção do canto. Outros trabalhos mostraram que quando as condições de desenvolvimento dos juvenis são afectadas por algum tipo de stress ambiental, estes produzem canções mais pobres e o volume dos centros nervosos de controlo do canto é reduzido (Nowicki et al. 2002, Buchanan et al. 2003, 2004; Spencer et al. 2003).

Funções do canto

No canto das aves podem distinguir-se canções, mais longas e complexas e vocalizações mais curtas, constituídas por um número variável de sílabas repetidas. As vocalizações mais simples estão normalmente associadas a contextos específicos como assinalar ou solicitar comida, perigo, reconhecimento, enquanto que a função das canções está relacionada com a reprodução e territorialidade (Nottebohm 1972; Konishi 1985; Marler 2004). Esta dualidade de funções, entre indivíduos de sexos diferentes e do mesmo sexo, deve estar sujeita a pressões selectivas de ambos e o seu aparecimento, especialmente nalgumas espécies em que o grau de complexidade é elevado, tem de estar relacionado com os benefícios que ambos obtêm. A teoria da selecção sexual prevê que para um sinal ser um indicador honesto de qualidade deve envolver custos para se desenvolver e manter (Zahavi 1975; Grafen 1990). Caso contrário, todos os indivíduos poderiam adquirir estes sinais independentemente da sua qualidade e o sinal tornar-se-ia desinformativo.

Considera-se existirem três funções principais para o canto das aves. O canto pode ser utilizado pelos machos para repelir outros machos e defender o território – função territorial – para atrair fêmeas para acasalar – função de atracção do par – ou para estimular a actividade reprodutiva das fêmeas – função estimulatória – (Kroodsmá e Byers 1991; Baptista e Gaunt 1994, Catchpole e Slater 1995). A função de estimulação de fêmeas foi demonstrada em milheirinhas através de uma experiência com apresentação de “playbacks”, para aumentar a quantidade de estimulação acústica das fêmeas durante o período de construção do ninho, tendo-se verificado um aumento do tempo despendido na construção (Mota e Depraz 2004).

Nos machos, a defesa territorial pode expressar-se de diversas formas (Dabelsteen et al. 1996, Searcy et al. 2000, Stoddard et al. 1992), através do uso de padrões de comportamento vocal que servem como um sinal para outros machos e permitem a avaliação da condição de possíveis rivais (Vehrencamp 2001, Ballentine et al 2008, Sprau et al 2010, Brumm e Ritschard 2011, Nelson e Poesel 2012).

Gil e Gahr (2002) sugeriram que a versatilidade do canto está relacionada com um sinal honesto da qualidade dos machos, aumentando o seu sucesso reprodutivo, o que foi demonstrado em diversas espécies (felosa-dos-juncos, *Acrocephalus schoenobaenus*, Buchanan 1997; pardal-cantor, *Melospiza melodia*, Hiebert et al. 1989). O sinal seleccionado pode funcionar como um indicador de determinadas características, como nível e qualidade de desenvolvimento (Nowicki et al. 1998, Nowicki et al. 2000, Buchanan et al. 2004).

O recurso a técnicas de playbacks tem sido usado para suscitar diversas respostas comportamentais, além de poder informar sobre inúmeros outros aspectos relacionados com interacções vocais entre indivíduos. É uma ferramenta particularmente útil na análise

das funções de comportamentos vocais entre aves (Kroodsma 1976, McGregor 2000). Os playbacks interactivos, ao contrário dos estímulos fixos, permitem simular diferentes situações de interacção vocal entre dois ou mais intervenientes e avaliar a resposta do indivíduo focal. Entre as várias funções atribuídas a estas formas de duetos vocais, as mais comuns são: 1) assinalar qualidade; 2) guarda-do-par; 3) defesa colaborativa de recursos; 4) atracção do par (revisão de Douglas e Mennill 2010). De um modo geral, estas interacções envolvem custos energéticos, podendo ser indicadoras da qualidade dos indivíduos (Lippold et al. 2008, Schmidt et al. 2006).

O canto como indicador de condição física

Embora tenha sido Darwin (1871) quem primeiro sugeriu que os traços sexualmente seleccionados poderiam tornar-se exagerados através da escolha continuada das fêmeas, ainda há muito por descobrir sobre a selecção destas características. Zahavi (1975, 1977) sugeriu que tais traços existem porque indicam a aptidão dos machos, actuando como um handicap, prevenindo assim que machos de “má qualidade” produzam ornamentos exagerados. Hamilton e Zuk (1982) alargaram esta ideia dizendo que a expressão de um traço sexualmente seleccionado podia reflectir especificamente uma troca entre pressões de selecção sexual e resistência a patógenos.

Apesar dos inúmeros trabalhos já realizados que demonstram a existência de selecção intra e inter-sexual sobre o canto das aves (Searcy 1986, Gil e Gahr 2002), uma questão permanece ainda pouco clara: de que forma a expressão do canto reflecte a qualidade dos indivíduos?

A aprendizagem do canto das aves canoras ocorre durante um período crítico, após o nascimento. Nesta fase, o stress nutricional a que os juvenis estão sujeitos pode afectar o seu desenvolvimento geral (Nowicki et al. 1998, Buchanan et al. 2004), que se reflecte na idade adulta. Particularmente no que diz respeito ao canto, o stress nutricional condiciona o desenvolvimento dos centros nervosos responsáveis pela produção do canto (Nowicki et al 2002), influenciando a aprendizagem e, posteriormente o desempenho. A ontogenia e a estrutura dos indivíduos determinam vários aspectos do canto que podem ser indicadores de qualidade, como tem sido amplamente demonstrado. Por exemplo, a exposição de aves no início de vida a parasitas pode influenciar algumas características, como a duração do canto (Hamilton e Zuk 1982, Bischoff et al 2009), reflectindo-se na atractividade e competitividade. Duffy e Ball (2002) comprovaram a relação existente entre imunocompetência e algumas características do canto no estorninho-comum, *Sturnus vulgaris*, sujeitas a selecção sexual. O desempenho do canto pode também ser indicador das reservas energéticas dos machos (Thomas et al. 2003, Nolan e Hill 2004), um aspecto que poderá ser importante na escolha das fêmeas. Embora o tamanho do repertório tenha sido relacionado com o sucesso reprodutivo, há alguns dados contraditórios, como referem Byers e Kroodsma (2009) relativamente à existência de espécies com repertórios pequenos.

Existem outras características vocais que podem servir como indicadoras da condição dos machos, como a capacidade de produzir determinados sons e a consistência com que são produzidos (Gil e Gahr 2002, Podos et al. 2009), uma vez que é necessária a coordenação dos diversos órgãos na produção do canto (Podos e Nowicki 2004, Suthers, 2004).

A produção do canto é um comportamento que envolve custos energéticos (Gil e Gahr 2002), condicionando a taxa de sobrevivência dos indivíduos (Searcy e Andersson

1986, Ballentine 2009). Algumas características morfológicas, como o tamanho do tarso, das asas ou do bico e o peso, indicadores da dimensão corporal e da condição física dos machos, estão correlacionadas com certas características do canto em algumas espécies (Kipper et al. 2006, Ballentine 2009, Pfaff et al. 2009). O canto pode também ser indicador da idade dos indivíduos (Barbara 2009, Nottebohm e Nottebohm 1987, Kipper e Kiefer 2010, Kiefer e Hultsch 2006), traduzindo-se num aperfeiçoamento do desempenho (Eens 1997).

Testes laboratoriais realizados com milheirinhas, *Serinus serinus*, demonstraram que as fêmeas têm uma preferência por canções com frequências mais altas, e preferem a sintaxe repetida mas que são inibidas por canções rápidas, enquanto que os machos apenas discriminam a velocidade das canções com uma resposta semelhante à das fêmeas, embora em contextos diferentes (Cardoso et al. 2007), o que poderá ter conduzido à evolução de certas características do canto nesta espécie. Existem inúmeros trabalhos que comprovam a capacidade das fêmeas para detectar pequenas diferenças na performance vocal dos machos, (Byers et al. 2010, Rivera-Gutierrez et al. 2011), mas há ainda muitas perguntas por responder sobre o funcionamento desta capacidade. Para compreender o compromisso entre as características do canto e os indicadores de qualidade dos machos, é importante analisar a sua variação inter-individual e compará-la.

Consequências do ruído na evolução de certas características do canto

Uma das consequências de certas actividades humanas que pode causar degradação dos habitats e, em situações limite, conduzir à extinção de espécies, é o ruído. O aumento do ruído antropogénico afecta particularmente a comunicação acústica, muito importante nas aves, podendo interferir directamente na reprodução dos indivíduos (Swaddle e Page 2007, Schroeder et al. 2012). A qualidade do sinal é um aspecto muito importante em qualquer sistema comunicacional. A razão sinal/ruído pode ser comprometida a ponto de afectar a percepção do sinal pelo receptor, o que é prejudicial tanto para o emissor como para o receptor. Os animais podem responder ao ruído, procurando minimizar os seus efeitos, quer através do aumento da energia colocada no som, quer alterando o timing ou a própria frequência dos sons produzidos. O seu efeito no canto das aves é sobretudo ao nível da alteração de frequências (revisto em Brumm e Zollinger 2011, Cardoso e Atwell 2011).

Este é um assunto que começou recentemente a merecer atenção por parte dos investigadores. Alguns trabalhos experimentais mostraram que as aves podem alterar a frequência dos sons como forma de evitar a sobreposição do ruído, excedendo-o, o que revela uma plasticidade do canto importante (Bermúdez-Cuamatzin et al. 2009). Os resultados da análise dos efeitos do ruído sobre outros comportamentos, como a ocupação de certos habitats (Francis et al., 2009) ou a actividade vocal (Diaz et al., 2011; Mockford e Marshall, 2009), são também uma prova da capacidade que as aves canoras têm de adaptar o comportamento vocal aos níveis de ruído.

Ecologia comportamental da milheirinha

A milheirinha (ou serino) é um pequeno Fringillídeo, pertencente à classe das aves, à ordem dos passeriformes, subfamília dos carduelíneos e género *Serinus*. Contudo, os géneros *Serinus* e *Carduelis* sofreram recentemente uma importante revisão. Evidências moleculares recentes (Nguembock et al. 2009; Zuccon et al. 2012) indicam que os dois géneros são polifiléticos e interdigitam amplamente, o que irá implicar um rearranjo completo do grupo, com a criação de vários novos géneros.

A milheirinha tem cerca de 11,5 cm de comprimento, de bico cónico, curto e largo e cauda bifurcada. É uma espécie que apresenta dimorfismo sexual. O macho apresenta uma coloração amarelo vivo na testa, supracílium, em volta das coberturas auriculares, garganta, peito e uropígio (que é muito conspícuo em voo); o abdómen é branco e apresenta riscas castanhas nos lados do peito e nos flancos em quantidade variável. Na parte superior apresenta uma tonalidade verde-acastanhada marcada com riscas cinzento-acastanhadas. Esta tonalidade é menos amarela na fêmea, mas as riscas são mais intensas, especialmente no peito, o que lhe dá um aspecto mais escuro. Em ambos os sexos, as asas são escuras, mas as margens das cobertas supra-alares são amareladas. Os juvenis assemelham-se às fêmeas, mas não apresentam amarelo ou verde, sendo mais claros e normalmente com maior quantidade de riscas (Cramp e Perrins 1994). Esta plumagem é substituída pela plumagem de adulto durante o Verão, podendo a partir desse período diferenciar-se os sexos (Svenson 1992).

A dieta da milheirinha é quase exclusivamente constituída por sementes de Brassica e outras, podendo ocasionalmente ingerir pequenos invertebrados (Cramp e Perrins 1994).

A distribuição original desta espécie limitava-se ao Sul da Europa (da Península Ibérica ao Sul dos Balcãs), Ásia Menor e Noroeste Africano (Cramp & Perrins 1994). Porém, nos últimos 200 anos tem-se expandido uniformemente para Norte e Este, encontrando-se actualmente a nidificar do Sul de Inglaterra e da Suécia, através da Alemanha e Polónia, até aos Estados Bálticos e Oeste da Ucrânia, o que é considerado como um notável evento ornitológico da actualidade (Mayr 1926, Senar & Copete 1990, Cramp & Perrins 1994, Kinzelbach 2004). Nas áreas mais recentemente colonizadas, a milheirinha comporta-se como migrador estival, chegando na Primavera e partindo no Outono para zonas mais a Sul (Cramp & Perrins 1994).

Originário de áreas florestais abertas do Sul da Europa, onde se encontrava principalmente em clareiras e ao longo da orla das florestas, aparecendo também em matagais de áreas montanhosas, a milheirinha colonizou uma imensa variedade de *habitats* como parques, jardins, terras cultivadas arborizadas, vinhas, pomares, orlas de bosques de qualquer natureza, dunas com pequenos povoamentos de pinheiro, tanto em zonas urbanas como em locais inóspitos (Gil-Delgado 1981, Senar & Copete 1990; Cramp & Perrins 1994). Tem uma distribuição muito alargada em Portugal, sendo a segunda espécie mais comum da avifauna nacional nidificante (segundo dados disponíveis de 2004 da SPEA – Sociedade Portuguesa para o Estudo das Aves). O período de nidificação, no Sul da Europa, ocorre entre fins de Fevereiro e princípios de Agosto, podendo haver mais de duas posturas por ano (Gil-Delgado 1981, Rufino 1989).

Esta espécie reproduz-se em Portugal continental entre os meses de Fevereiro e Julho. Existem indivíduos que migram, regressando às mesmas zonas de reprodução do ano anterior, enquanto outros permanecem nas áreas de reprodução durante todo o ano.

Na época de reprodução os machos cantam activamente e acasalam com uma fêmea, que inicia o processo de construção do ninho, depois da escolha do local para o fazer. Trata-se de uma espécie monogâmica, como a maioria das espécies estudadas de fringílidos (Cramps e Perrins 1994), com um padrão semi-colonial de reprodução (Mota 1999). Na área de estudo da presente tese, foram encontrados ninhos em locais muito variados: oliveiras, pinheiros, arbustos, cedros, a uma altura do solo que variou entre 1 e 10m. Nesta fase, o macho alimenta a fêmea algumas vezes, enquanto ela constrói o ninho sozinha. No final, põe 2 a 4 ovos, que incuba durante cerca de 13 dias. Quando os ovos eclodem, a fêmea ainda se mantém no ninho durante mais um ou dois dias, sendo alimentada pelo macho, tal como durante a incubação. Após a eclosão e durante o tempo que a fêmea ainda permanece no ninho, os juvenis são alimentados por ela, depois de ser alimentada pelo seu par. Nos 13-15 dias seguintes, as jovens milheirinhas são alimentadas pelos dois progenitores, até terem o corpo quase coberto por penas, já com pouca penugem. Os juvenis estão prontos para sair do ninho e protegem-se dos predadores escondendo-se em zonas com vegetação rasteira. A partir daqui é o macho que assume quase totalmente a alimentação das crias durante mais algum tempo. Muitas vezes, a fêmea inicia quase imediatamente um novo ciclo: procura do local apropriado, construção do ninho, postura e incubação. Na maioria dos casos, se a postura foi bem sucedida e os juvenis se encontram na área onde a fêmea fez o seu primeiro ninho, esta volta a fazer um segundo ninho próximo do primeiro. Desta forma, assegura a proximidade do macho, que tem de alimentar os juvenis já fora do ninho, alimentar e guardar o seu par. A guarda do par nesta espécie é feita pela perseguição e vigilância da fêmea, especialmente durante o período fértil, que o macho faz usando os seus dotes vocais para afastar possíveis rivais e para estimular a fêmea. A paternidade extra-par é reduzida ou inexistente em algumas populações e anos (Hoi-Leitner et al.

1999, Mota e Hoi-Leitner 2003). A fêmea efectua de uma a três posturas, dependendo do sucesso reprodutivo.

A milheirinha é a espécie filogeneticamente mais próxima do canário, *Serinus canaria* (Zuccon et al. 2012), uma das aves mais estudadas em laboratório, sobre diversos aspectos do canto (Hinde e Steel 1976, Del Negro et al. 2000, Leitner e Catchpole 2004, Leitner et al. 2006). Na milheirinha a comunicação vocal tem uma enorme importância (Mota, 1999; Mota & Depraz 2004), sendo o elevado grau de interação acústica entre os indivíduos um traço distintivo do comportamento social desta espécie.

O canto da milheirinha

O canto da milheirinha foi já estudado anteriormente, quanto à sua estrutura (Mota e Cardoso 2001, Cardoso e Mota 2004, Cardoso et al. 2007), o que serviu de base para a realização da presente tese. As canções dos machos desta espécie são constituídas por sequências de notas/elementos, ordenadas e rápidas, em séries que se repetem. O tamanho dos repertórios varia entre 42 e 66 sílabas (Mota e Cardoso 2001). Como as possibilidades de combinação desses elementos é muito elevada, o número de diferentes canções que podem ser produzidas é também muito elevado ou quase ilimitado. As vocalizações mais características são as de contacto, que machos e fêmeas adultos emitem com grande frequência e que desempenham funções de coordenação de movimentos dos elementos do par ou de sinalização da presença dos indivíduos (Pacheco 2002). Os machos emitem frequentemente estas vocalizações em voo, quando procuram a fêmea do seu par, na sequência de uma perda de contacto temporário. As

vocalizações têm geralmente um elemento inicial distinto, seguido por um número variável de elementos idênticos (Mota e Cardoso 2001).

Investigações laboratoriais e de campo, (Mota e Hoi-Leitner 2003, Cardoso et al. 2007, Mota e Depraz 2004), permitiram confirmar a importância do canto no sistema comunicacional da milheirinha, além de terem possibilitado a compreensão do efeito do canto sobre o comportamento e fisiologia das fêmeas e ainda de se terem identificado alguns componentes do canto que parecem estar sobre o efeito de selecção inter-sexual, como a frequência. Era desconhecido, contudo, o grau de plasticidade anual do canto nestas aves, se o canto podia funcionar ou não como indicador de idade, a forma como interagem acusticamente os machos entre si e que tipo de informação é veiculada. Estes foram alguns dos assuntos que procurámos estudar e compreender com a realização desta tese.

Objectivos e estrutura da tese

O objectivo deste trabalho foi compreender melhor o sistema comunicacional vocal da milheirinha e qual o seu significado e importância em termos evolutivos, através de um conjunto de observações, gravações e experiências realizadas em ambiente natural. Procurámos medir a variação anual do canto dos machos e a plasticidade do canto, determinar se o canto pode ser indicador de condição e tamanho, se os machos respondem a desafios vocais e de que forma o ruído de origem antropogénica pode afectar o canto desta espécie. Foram analisadas diversas características do canto, recorrendo a gravações em contexto natural e experiências de playback. Pretendia-se saber quais as variáveis do canto com particular importância na comunicação vocal

desta espécie e qual o seu significado e importância em termos evolutivos. Abordamos questões relacionadas com o desempenho do canto enquanto resposta a um possível rival ou simplesmente nas suas características físicas em contexto de época reprodutiva.

Relativamente à plasticidade vocal destas aves procurámos responder às questões:

1. o canto em adulto é modificável entre anos?
2. o grau de modificação coloca a espécie entre as ‘closed’ ou ‘open-ended learners’?
3. o canto pode funcionar como um indicador de qualidade nesta espécie?

Relativamente ao significado do conteúdo comunicacional e à evolução dos sistemas de comunicação, pretendemos responder às questões seguintes:

1. de que maneira o desempenho vocal pode ser usado como indicador de qualidade dos machos nesta espécie?
2. a sobreposição ou alternância do canto provoca algum tipo de variação nas características do canto como resposta ao estímulo?
3. a resposta vocal é interpretável por outras aves?
4. qual a influência do ruído antropogénico nas características do canto?

Para responder a estas questões foram elaborados um conjunto de experiências e testes que se organizaram em quatro capítulos que passo a descrever com uma breve síntese das principais conclusões:

Capítulo 3. Variação inter-anual limitada do canto da milheirinha (*Serinus serinus*) (Artigo publicado; Mamede AT, Mota PG. 2012. Limited inter-annual song variation in the serin (*Serinus serinus*) *Ethology* 118:1157–1164.)

Neste capítulo foi feita uma análise da variação inter-anual do canto e de regras identificáveis dessa variação, através do estudo intensivo de 14 indivíduos durante duas épocas reprodutivas preferencialmente consecutivas. Registou-se uma tendência para a preservação da estrutura das canções com grande estabilidade na ordem das sílabas. As pequenas alterações observadas entre anos, resultantes da substituição de sílabas ou pequenas sequências nos mesmos locais da canção, e a consistência no desempenho das sílabas e canções, revelam uma variação inter-anual do canto muito reduzida.

Capítulo 4. As diferenças no canto não reflectem diferenças no tamanho corporal entre machos de duas espécies de aves canoras

(Artigo publicado: Gonçalo CC, Mamede AT, Atwell JW, Mota PG, Ketterson ED, Price TD. 2008. Song Frequency Does Not Reflect Differences in Body Size among Males in Two Oscine Species. *Ethology*. 114:1084-1093.)

Neste capítulo questionámos se a frequência das canções está relacionada com o tamanho corporal em duas espécie oscíneos que diferem no tamanho do repertório: o junco (*Junco hyemalis*) e a milheirinha (*Serinus Serinus*). Muitas vezes, as diferenças no tamanho dos indivíduos estão relacionadas com o seu potencial competitivo ou qualidades genéticas. No entanto, talvez pelo reduzido intervalo na variação inter-individual do tamanho, não se verificam diferenças significativas em nenhuma das características de frequência do canto, apesar de existirem evidências da preferência das fêmeas por canções com frequências mais elevadas.

características de frequência do canto, apesar de existirem evidências da preferência das fêmeas por canções com frequências mais elevadas.

Capítulo 5. Resposta vocal dos machos de milheirinha, *serinus serinus*, a desafios com playbacks interactivos

Procurámos saber se os machos de milheirinha (*Serinus serinus*) respondem a desafios vocais e de que modo. Em particular, interessava-nos determinar se os desafios de elevada intensidade – simulados através de playback com sobreposição das canções – originavam uma resposta diferenciada, que pudesse indicar diferenças motivacionais e de intenção de ataque por parte dos indivíduos. Testamos a resposta de 16 machos a gravações de playback interactivas de conspecíficos, alternadas e sobrepostas. A sobreposição de canções, em muitas espécies, é um sinal de agressividade, podendo fornecer informação sobre o estatuto dos indivíduos que se envolvem neste tipo de competição. Já a alternância de canções presume-se estar associada ao efeito “dear enemy”, envolvendo algum tipo de reconhecimento que evita confrontos agressivos. Verificámos existir uma redução na duração das canções em contextos de playback relativamente à situação de controlo e um aumento dos intervalos entre as canções com os estímulos alternados que indica uma certa tendência para evitar a sobreposição. Registámos também um aumento do intervalo entre sílabas com o estímulo alternado e uma redução geral da taxa de sílabas em ambas as condições experimentais de alternância e sobreposição sugerindo uma desaceleração do canto.

Capítulo 6. Efeitos do ruído no desempenho vocal das milheirinhas

O crescente ruído antropogénico tem vindo a afectar de diversas maneiras inúmeras espécies, em especial aquelas que dependem da comunicação acústica para a sua sobrevivência e reprodução. Os sinais acústicos, muito eficazes na comunicação a longa distância, sofrem cada vez mais interferências de ruídos de baixa frequência. Para entendermos as consequências deste factor na evolução dos sinais em novas condições acústicas, é necessário determinar a sua influência na comunicação entre indivíduos/populações. Neste capítulo analisamos o efeito do ruído sobre o canto da milheirinha, em contextos com diferentes graus de ruído. Registou-se um ligeiro aumento da frequência mínima das canções, por alteração da frequência de algumas sílabas quando o ruído era maior. Uma vez que o canto da milheirinha é muito complexo, e tem uma gama de frequências muito elevada, presume-se que este aumento só afecte as sílabas com a frequência mínima mais baixa, embora não tenha sido feita uma análise da variação da frequência em todo o repertório dos 14 indivíduos. Este resultado, para além de mostrar alguma plasticidade no desempenho das sílabas, indica uma tendência favorável de adaptação a ambientes com elevado ruído.

Referências

Ballentine B, Searcy WA, Stephen N. 2008. Reliable aggressive signalling in swamp sparrows. *Anim Behav.* 75:693-703.

Ballentine B. 2009. The ability to perform physically challenging songs predicts age and size in male swamp sparrows, *Melospiza georgiana*. *Anim Behav.* 77:973-978.

Baptista L, Gaunt SL. 1994. Historical perspectives. *Advances in studies of avian sound communication*. *Condor*. 96:817-830.

Barbara B. 2009. The ability to perform physically challenging songs predicts age and size in male swamp sparrows, *Melospiza georgiana*. *Anim Behav*. 77: 973-978.

Beecher M, Brenowitz E. 2005. Functional aspects of song learning in songbirds. *Trends Ecol. Evol*. 20:143-149

Bermudez-Cuamatzin E, Rios-Chelen AA, Gil D, Garcia CM. 2009. Strategies of song adaptation to urban noise in the house finch: syllable pitch plasticity or differential syllable use? *Behaviour*. 146:1269-1286.

Bischoff LL, Tschirren B, Richner H. 2009. Long-term effects of early parasite exposure on song duration and singing strategy in great tits. *Behav Ecol*. 20:265-270.

Bolhuis J, Eda-Fujiwara H. 2003. Bird brains and songs: neural mechanisms of birdsong perception and memory. *Anim. Biol*. 53:129-145

Boran JR, Heimlich SL. 1990. Social learning in cetaceans; Hunting, hearing and hierarchies. *Symp Zool Soc Lond*. 73:282-307.

Bradbury JW, Vehrencamp SL. 1998. *Principles of Animal Communication*. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc, 1998.

Brainard MS, Doupe AJ. 2002. What songbirds teach us about learning. *Nature* 417:351-358.

Brumm H, Ritschard M. 2011. Song amplitude affects territorial aggression of male receivers in chaffinches. *Behav Ecol*. 22:310-316.

Brumm H, Zollinger SA. 2011. The evolution of the Lombard effect: 100 years of psychoacoustic research. *Behaviour*. 148:1173-1198.

Buchanan KL, Catchpole CK. 1997. Female choice in the sedge warbler, *Acrocephalus schoenobaenus*: multiple cues from song and territory quality. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 264:521–526

Buchanan KL, Leitner S, Spencer KA, Goldsmith AR, Catchpole CK. 2004. Developmental stress selectively affects the song control nucleus HVC in the zebra finch. *Proc R Soc Lond Ser B*. 271:2381–2386

Buchanan KL, Spence, KA, Goldsmith AR, Catchpole CK. 2003. Song is an honest signal of past developmental stress in the European starling (*Sturnus vulgaris*). *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 270:1149-1156.

Byers B, Kroodsma DE. 2009. Female mate choice and songbird song repertoires. *Anim Behav*. 77:13-22.

Byers BE, Belinsky KL, Bentley RA. 2010. Independent Cultural Evolution of Two Song Traditions in the Chestnut-Sided Warbler. *Am Nat*. 176:476-489.

Cardoso GC, Atwell JW. 2011. On the relation between loudness and the increased song frequency of urban birds. *Anim Behav*. 82:831-836.

Cardoso GC, Mota PG, Depraz V. 2007: Female and male serins (*Serinus serinus*) respond differently to derived song traits. *Behav Ecol Sociobiol*. 61:1425-1436.

Cardoso GC, Mota PG. 2004 Female serin (*Serinus serinus*) responses to song do not favour the predominant song syntax. *EtholEcolEvol*. 16:329-338.

Catchpole CK, Slater PJB. 1995. Bird song. Biological themes and variations, Cambridge Univ. Press.

Chomsky N. 1957. Syntactic structures. London Mouton and Company.

Cramp S, Perrins CM. 1994. Handbook of the birds of Europe, the Middle East and North Africa. The birds of the Western Palearctic. Volume VIII: Crows to Finches. Oxford University Press, Oxford.

Dabelsteen T, McGregor PK, Shepherd M, Whittaker X, Pedersen SB. 1996. Is the signal value of overlapping singing different from that of alternating singing during matching in great tits? *J Avian Biol.* 27:189–194.

Darwin C. 1871. The descent of man, and selection in relation to sex. London: John Murray.

Del Negro C, Kreutzer M, Gahr M. 2000. Sexually stimulating signals of canary (*Serinus canaria*) songs: evidence for a female-specific auditory representation in the HVC nucleus during the breeding season. *Behav Neurosci.* 114:526-542.

DeVoogd TJ, Krebs JR, Healy SD, Purvis A. 1993. Relations Between Song Repertoire Size and the Volume of Brain Nuclei Related to Song: Comparative Evolutionary Analyses Amongst Oscine Birds. *Proc R Soc Lond B.* 254: 5-82.

Diaz M, Parrab A, Gallardob B. 2011 Serins respond to anthropogenic noise by increasing vocal activity. *Behav Ecol.* 22:332-336

Douglas SB, Mennill DJ. 2010. A review of acoustic playback techniques for studying avian vocal duets. *J Field Ornithol.* 81:115-129.

Doupe AJ, Kuhl PK. 1999. Birdsong and human speech: Common themes and mechanisms. *Annu Rev Neurosci.* 22:567-631.

Duffy DL, Ball GF. 2002 Song predicts immunocompetence in male European starlings (*Sturnus vulgaris*). *Proc R Soc Lond B.* 269:847-852.

Eens M. 1997 Understanding the complex song of the European starling: an integrated ethological approach. *Adv Study Behav.* 26:355-434.

Francis CD, Ortega CP, Cruz A. 2009. Noise pollution changes avian communities and species interactions. *Curr Biol.* 19:1415-1419.

Gil D, Gahr M. 2002. The honesty of bird song: multiple constraints for multiple traits. *Trends Ecol. Evol.* 17:133-141.

Gil-Delgado JA. 1981. La avifauna del naranjal valenciano. III. El verdecillo (*Serinus serinus*). *Mediterr Ser Biol.* 5:97-114.

Goldman S, Nedergaard M. 1992. Newly generated neurons of the adult songbird brain form functionally active networks in culture. *Dev Brain Res.* 68:217-223.

Grafen A. 1990. Biological signals as handicaps. *J Theor Biol.* 144:517-546.

Hamilton WD, Zuk M. 1982. Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science.* 218:384-387.

Hiebert SM, Stoddard PK, Arcese PA. 1989. Repertoire size, territory acquisition and reproductive success in the song sparrow. *Anim Behav.* 37:266-273.

Hinde RA, Steel E. 1976. The effect of male song on an estrogen-dependent behavior pattern in the female canary (*Serinus canarius*). *Horm Behav.* 7:293-304.

Hoi-Leitner M, Hoi H, Romero-Pujante M, Valera F. 1999. Female extra-pair behaviour and environmental quality in the serin (*Serinus serinus*): a test of the 'constrained female hypothesis'. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 266:1021-1026.

Hultsch H, Todt D. 2004. Approaches to the mechanisms of song memorization and singing provide evidence for a procedural memory. *An Acad Bras Cienc.* 76:219-230.

Jarvis ED. 2004. Brains and birdsong. *Nature's music. The science of birdsong.* P. Marler and H. Slabbekoorn. San Diego & London. Elsevier:226-271.

Jarvis ED. 2004b. Learned birdsong and the neurobiology of human language. *Ann NY Acad Sci.* 1016:749-777.

Kiefer S, Hultsch H. 2006. Age related increase of song type repertoires in Common nightingales *Luscinia megarhynchos*. *J Ornithol.* 147:94-194.

Kinzelbach RK. 2004. The distribution of the serin (*Serinus serinus* L. 1766) in the 16th century. *J. Orn.* 145:177-187.

Kipper S, Kiefer S. 2010. Age-related changes in birds' singing styles: on fresh tunes and fading voices? *Adv Study Behav.* 41:77-118.

Kipper S, Mundry R, Sommer C, Hultsch H, Todt D. 2006. Song repertoire size is correlated with body measures and arrival date in common nightingales, *Luscinia megarhynchos*. *Anim Behav.* 71:211-217.

Kim JR, DeVoogd TJ. 1989. The genesis and death of vocal control neurons during sexual differentiation in the zebra finch. *J Neurosci.* 9:3176-3187.

Konishi M. 1985. Birdsong: From Behavior to neuron. *Annu Rev Neurosci.* 8:125-170.

Krebs JR., Ashcroft R, Webber M. 1978. Song repertoires and territory defence in the great tit. *Nature*. 271:539-542.

Kroodsma DE, Byers BE. 1991. The function(s) of bird song. *Am Zool*. 31:318-328.

Kroodsma DE, Miller EH. 1996. Ecology and evolution of acoustic communication in birds. Ithaca & London, Cornell University Press.

Kroodsma DE. 1976: Reproductive development in a female song bird: differential stimulation by quality of male song. *Science*. 192:574-575.

Kroodsma DE. 2004. The diversity and plasticity of birdsong. In: *Nature's Music. The Science of Birdsong* (Ed. by Marler P, Slabbekoorn H. Amsterdam). Elsevier Academic, p. 108–131

Leitner S, Catchpole CK. 2004 Syllable repertoire size and the size of the song control system in captive canaries (*Serinus canaria*). *J Neurobiol*. 60:21-27.

Leitner S, Catchpole CK. 2007. Song and brain development in canaries raised under different conditions of acoustic and social isolation over two years. *Dev Neurobiol*. 67:1478-1487.

Leitner S, Marshall RC, Leisler B, Catchpole CK. 2006. Male song quality, egg size and offspring sex in captive canaries (*Serinus canaria*). *Ethology*. 112:554-563.

Lippold S, Fitzsimmons LP, Foote JR, Ratcliffe LM, Mennill DJ. 2008. Postcontest behaviour in black-capped chickadees (*Poecile atricapillus*): loser displays, not victory displays, follow asymmetrical countersinging exchanges. *Acta Ethol*. 11:67-72.

- Marler P, Peters S. 1982. Subsong and plastic song: their role in the vocal learning process. In: Acoustic Communication in Birds. Vol. 2. (KROODSMAD, . E., & E. H. MILLER, ds.). Acad. Press, New York, pp. 25-50.
- Marler P, Slabbekoorn H. 2004. Nature's music. The science of birdsong. Elsevier Academic Press, San Diego, California..
- Marler P. 2004. Science and birdsong: The good old days. In: Nature's Music: The Science of Birdsong (Ed. by P. Marler & H. Slabbekoorn). Elsevier Academic Press, San Diego , CA , pp. 1-38
- Mayr E. 1926. Die ausbreitung des Girlitzes (*Serinus canaria serinus*). J. Ornithol. 74:571-671.
- McGregor PK. 2000. Playback experiments: design and analysis. Acta Ethol. 3:3-8.
- Mockford EJ, Marshall RC. 2009. Effects of urban noise on song and response behaviour in great tits. Proc R Soc Lond B. 276:2979-2985.
- Mota PG, Depraz V. 2004. Male song affects female nesting behaviour in the Serin (*Serinus serinus*): a field playback experiment. Ethology. 110:841-850.
- Mota PG, Hoi-Leitner M. 2003. Intense extrapair behaviour in a semicolonial passerine does not result in extrapair fertilizations. Anim Behav. 66:1019-1026.
- Mota PG. 1999. The function of song in the serin. Ethology. 105:137-148.
- Mota, P. G. & Cardoso, G. 2001: Song organisation and patterns of variation in the serin (*Serinus serinus*). Acta Ethol. 3, 141-150.
- Nelson DA, Poesel A. 2012. Responses to Variation in Song Length by Male White-Crowned Sparrows. Ethology. 118:24-32.

Nguembock B, Fjeldsa J, Couloux A, Pasquet E. 2009. Molecular phylogeny of Carduelinae (Aves, Passeriformes, Fringillidae) proves polyphyletic origin of the genera *Serinus* and *Carduelis* and suggests redefined generic limits *Mol Phylogenet Evol.* 51:169-181.

Nolan PM, Hill GE. 2004. Female choice for song characteristics in the house finch. *Anim Behav* 67: 403-410.

Nottebohm F, Nottebohm ME, Crane LA, Wingfield JC. 1987. Seasonal changes in gonadal hormone levels of adult male canaries and their relation to song. *Behav. Neural Biol.* 47:197-211

Nottebohm F. 1972. The origins of vocal learning. *Am Nat* 106:116-140.

Nottebohm F. 1976. Vocal tract and brain: a search for evolutionary bottlenecks. *Ann NY Acad Sci.* 280:643–649.

Nottebohm F. 1981. A brain for all seasons: cyclical anatomical changes in song-control nuclei of the canary brain. *Science* 214:1368-1370.

Nottebohm F. 1984. Birdsong as a model in which to study brain processes related to learning. *Condor.* 86:227–236

Nottebohm F. 1999. The anatomy and timing of vocal learning in birds. *The Design of Animal Communication* Edited by MD Hauser and M Konishi. MIT Press Cambridge. 3:63-110

Nowicki S, Hasselquist D, Bensch S, Peters S. 2000. Nestling growth and song repertoire size in great reed warblers: evidence for song learning as an indicator mechanism in mate choic. *Proc Roy Soc Lond B.* 267:2419-2424

Nowicki S, Peters S, Podos J. 1998. Song learning, early nutrition and sexual selection in songbirds. *Am Zool.* 38:179-190.

Nowicki S, Searcy W, Peters S. 2002. Brain development, song learning and mate choice in birds: a review and experimental test of the 'nutritional-stress hypothesis'. *J Comp Physiol A.* 188:1003–1014.

Pacheco C. 2002. Reconhecimento individual entre os membros do par e individualidade nas vocalizações de contacto na Milheirinha (*Serinus serinus*). MSc Thesis, Universidade de Coimbra, Portugal.

Pfaff JA, Zann L, MacDougall-Shackleton SA, MacDougall-Shackleton EA. 2007. Song repertoire size varies with HVC volume and is indicative of male quality in song sparrows (*Melospiza melodia*). *Proc R Soc Lond B.* 274:2035-2040

Pinker S. 1984. *Language Learnability and Language Development*. Cambridge, MA: Harvard University Press.

Podos J, Lahti DC, Moseley DL. 2009. Vocal performance and sensorimotor learning in songbirds. In *Advances in the Study of Behavior*, Vol. 40 (Marc Naguib, Klaus Zuberbuumlhler, Nicola S. Clayton, and Vincent M. Janikeds, eds.), pp. 159–195. San Diego: Elsevier Academic Press.

Podos J, Nowicki S. 2004. Performance limits on birdsong. In *Nature's Music: The Science of Bird Song*, ed. P Marler, H Slabbekoorn. New York: Academic.

Rivera-Gutierrez HF, Pinxten R, Eens M. 2011. Songs differing in consistency elicit differential aggressive response in territorial birds. *Biol Lett.* 7:339-342.

Rufino R. 1989. Atlas das Aves Nidificantes em Portugal Continental. Serviço Nacional de Parques Reservas e Conservação da Natureza. Lisboa.

Savage-Rumbaugh S, Rumbaugh DM, McDonald K. 1985. Language-learning in two species of apes. *Neurosci Biobehav Review*. 9:653-65.

Scharff C, Petri J. 2011. Evo-devo, deep homology and FoxP2: implications for the evolution of speech and language. *Phil Trans R Soc B*. 366:2124-2140.

Schmidt R, Kunc HP, Amrhein V, Naguib M. 2006. Responses to interactive playback predict future pairing success in nightingales. *Anim Behav*. 72:1355-1362.

Schroeder J, Nakagawa S, Cleasby IR, Burke T. 2012. Passerine Birds Breeding under Chronic Noise Experience Reduced Fitness. *Plos One*. 7:1-8.

Searcy WA, Andersson M. 1986. Sexual selection and the evolution of song. *Annu Rev Ecol Syst*. 17:507-533.

Searcy WA, Nowicki S, Hogan C. 2000.) Song type variants and aggressive context. *Behav Ecol Sociobiol*. 48:358–363

Senar JC, Copete JL. 1990. Survival and mean life span of Serin (*Serinus serinus*). *Bird Study*. 37:40-43.

Slater PJB. 1989. Bird song learning: causes and consequences. *Ethol Ecol Evol*. 1:19-46.

Slater PJB. 2003. Fifty years of bird song research: a case study in animal behavior. *Anim Behav*. 65:633-639.

Spencer KA, Buchanan KL, Goldsmith AR, Catchpole CK. 2003 Song as an honest signal of developmental stress in the zebra finch (*Taeniopygia guttata*). *Horm Behav* 44:132–139.

Sprau P, Schmidt R, Roth T, Amrhein V, Naguib M. 2010. Effects of rapid broadband trills on responses to song overlapping in nightingales. *Ethology*. 116:300-309.

Stoddard PK, Beecher MD, Campbel SE, Horning CL. 1992: Song type matching in the song sparrow. *Can J Zool*. 70:1440-1444.

Suthers RA, Zollinger SA. 2004. Producing song - The vocal apparatus. *Ann N Y Acad Sci*. 1016:109-29.

Suthers RA. 2004. How birds sing and why it matters. in *Nature's music*. In: *The science of birdsong*. P. Marler and H. Slabbekoorn. San Diego, Elsevier:272-295.

Svensson L. 1992. Identification guide to the European passerines. Svensson, Stockholm.

Swaddle JP, Page LC. 2007. High levels of environmental noise erode pair preferences in zebra finches: implications for noise pollution. *Anim Behav*. 74:363-368.

Thomas RJ, Cuthill IC, Goldsmith AR, Cosgrove DF, Lidgate JC Burdett Proctor SL. 2003. The trade-off between singing and mass gain in a daytime-singing bird, the European robin. *Behaviour* 140:387-404.

Vehrencamp S. 2001. Is song-type matching a conventional signal of aggressive intentions? *Proc R Soc London B Biol Sci*. 268:1637-1642.

Zahavi A. 1975. Mate selection-a selection for a handicap. *J Theor Biol*. 53:205-21

Zahavi A. 1977. The cost of honesty. *J Theor Biol*. 67:603-605

Zuccon D, Prŷs-Jones R, Rasmussen PC, Ericson PGP. 2012. The phylogenetic relationships and generic limits of finches (Fringillidae). *Mol Phylogenet Evol.* 62:414-426.

CAPÍTULO 2

Metodologias gerais

But man has still another powerful resource: natural science with its strictly objective methods.

Ivan Pavlov

Área de estudo

Situada na margem esquerda do Mondego, com cerca de 50 ha, a área insere-se num meio de transição entre uma zona de ocupação urbana, Arzila, e uma zona mista de cultivo e floresta, existindo nas imediações construções do tipo industrial e moradias (Figura 2.1). As espécies mais comuns da zona florestal são o pinheiro-bravo (*Pinus pinaster*), o sobreiro (*Quercus suber*), o carvalho (*Quercus sp.*), e o eucalipto (*Eucalyptus globulus*), enquanto a oliveira (*Olea europaea*) está mais associada aos campos de cultivo. O medronheiro (*Arbutus unedo*), rosmaninho (*Rosmarinus officinalis*), salgueiro (*Salix sp.*), amieiro (*Alnus glutinosa*) e o choupo (*Populus sp.*) são espécies arbustiva ou arbóreas que também se encontram com alguma frequência nesta área, para além de todas as espécies herbáceas associadas, como o feto-real (*Osmunda regalis*), tão característico de zonas húmidas como a zona adjacente do Paul de Arzila. Os terrenos agrícolas estão muito fragmentados em áreas pequenas, servindo apenas para produção de culturas mistas para consumo próprio.

Pela proximidade do paul, podem observar-se várias espécies de aves, características destas zonas que são fundamentais nas migrações outonais de passeriformes transarianos e também como áreas de nidificação de diversas espécies pela sua riqueza alimentar e, simultaneamente, pela existência de excelentes locais de nidificação e protecção.

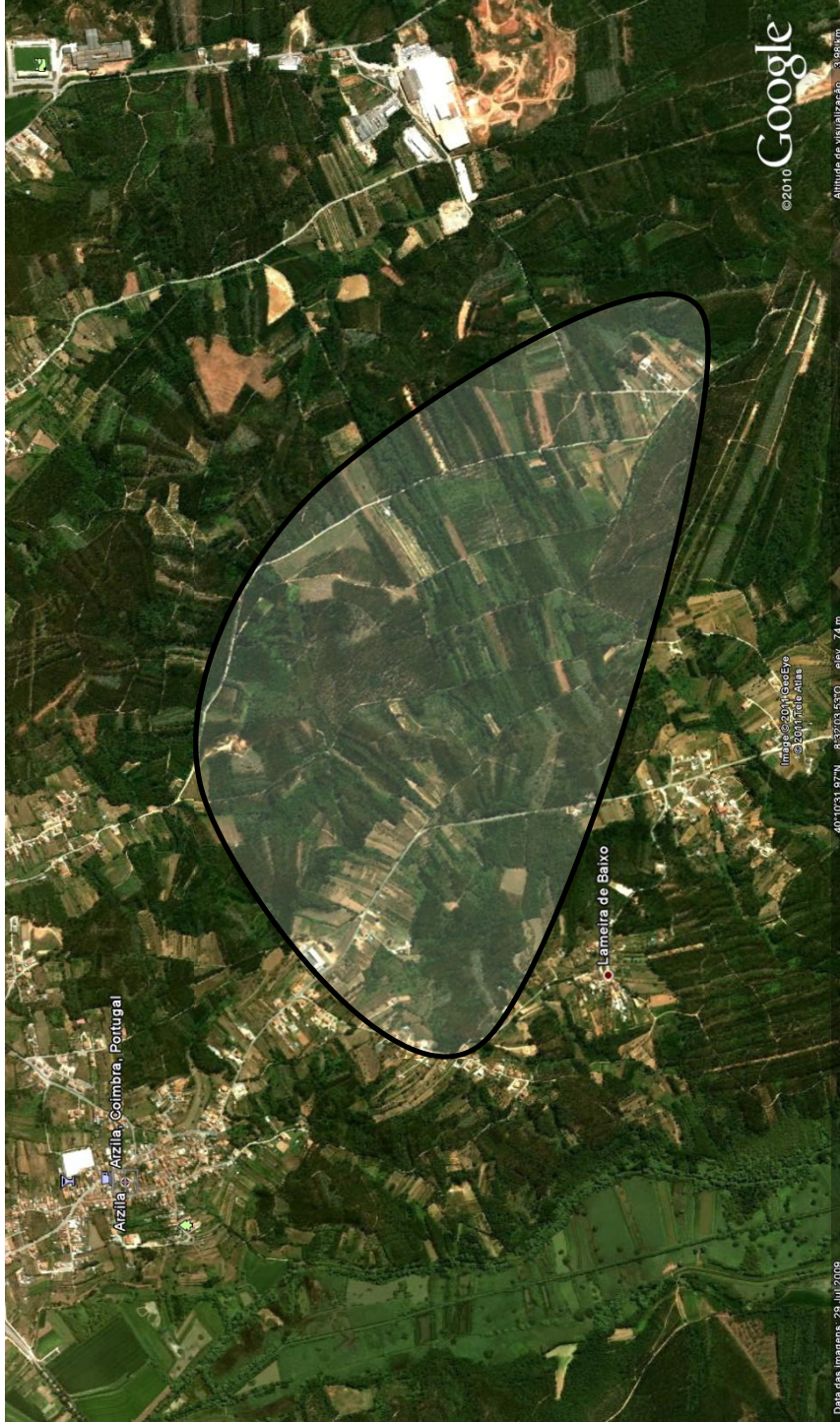


Figura 2.1 - Vista aérea da área onde foi efectuada a recolha de dados para a realização deste estudo (zona sombreada), situada a cerca de 14 Km de Coimbra, perto da Reserva Natural do Paul de Arzila (Google Maps 2010).

Métodos de captura e registo

Captura

As aves foram capturadas entre os meses de Fevereiro e Abril de 2002 a 2007, com a utilização de armadilhas (70x60x50 cm; 100x60x45 cm) de 2 entradas unidireccionais e, ocasionalmente, redes verticais “*singles*” (de um só bolso) ou de 4 bolsos (de 12 m), colocadas junto aos locais de alimentação. Cada ave foi anilhada com uma combinação única de quatro anilhas coloridas (Figura 2.2). As cores utilizadas foram: vermelho (V), amarelo (A), verde (D), azul claro (Z) e azul escuro (E). A representação para referir cada ave indica as cores pela seguinte ordem: de cima para baixo da esquerda para a direita. A anilhagem foi feita ao abrigo de certificados de autorização para PGM.



Figura 2.2 – Anilhagem de uma milheirinha com uma combinação de 4 anilhas coloridas para identificação individual.

Registos morfológicos

Das aves assim marcadas individualmente, foram registadas algumas medidas morfométricas, segundo as indicações de Svensson (1992): peso, comprimento do tarso,

comprimento das asas, comprimento da cauda, altura do bico. Os registos morfométricos foram feitos usando uma régua de encosto (precisão: 1mm), uma craveira (precisão: 0,1mm) e uma pesola (precisão: 0,1g). Foi também determinada a idade (juvenil, primeiro ano, adulto), sexo (Svensson, 1992) e a quantidade de ectoparasitas das asas. A taxa de infecção por ectoparasitas dos adultos foi quantificada pelo método descrito por Behnke *et al.* (1995), que consiste na observação à vista desarmada das penas primárias (excepto a primeira) e das penas secundárias, em ambas as asas. Classifica-se cada pena numa escala de 0 (sem parasitas) a 3 (parasitas cobrem toda a ráquis e estão dispersas por entre as barbas).

Durante os 6 anos de trabalho de campo, foram capturadas e anilhadas 472 aves. Destas, obteve-se o registo do comportamento vocal de 100.

Registos sonoros

Foram recolhidos registos sonoros quase diariamente no período compreendido entre Fevereiro e Junho, durante os 6 anos, entre as 7:00 e as 12:00 horas. Para tal foi utilizado um microfone ultra direccional Sennheiser MKH70 com uma protecção contra o vento, um gravador analógico (Marantz CP430) e gravadores digitais (Marantz PMD670 e PMD660). Cada ave estava anilhada com uma combinação única de cores que permitia a sua identificação individual com recurso a uns binóculos (Nikon Action, 8x40) e a um telescópio (Swarovsky AT 80 HD 20x-60x).

Para todas as experiências de playback foi necessário utilizar um telescópio Swarovsky AT 80 HD 20x-60x, uns binóculos 30x60, um computador portátil, ao qual se ligou uma coluna com alimentador (Figuras 2.3 e 2.4). O software utilizado foi o Syrinx (real time

spectrographic recording, analysis and playback of sounds, John Burt), muito eficaz neste tipo de experiências, uma vez que reproduz as canções pretendidas com um simples toque numa tecla do computador, com um atraso mínimo, que também depende da rapidez do experimentador.

Os estímulos utilizados foram feitos a partir de registos de machos, obtidos em anos anteriores, a distâncias superiores a 30 Km da área de estudo, eliminando o factor de possível reconhecimento. Foram escolhidas canções curtas (1,0 a 2,5 seg.), numeradas e usadas apenas uma vez, para evitar efeitos de pseudo-replicação.



Figura 2.3 - Telescópio usado para identificar as aves e computador portátil para reprodução das canções durante as experiências de playback.



Figura 2.4 – Coluna Sony SRS-A57, com alimentador (pilha de 9V), para reprodução das canções durante as experiências de playback, dentro de uma caixa que direcciona o som.

Todas as gravações foram digitalizadas e analisadas com o Avisoft-SAS Lab., com uma frequências de amostragem 22050, 24000 e/ou 44100 Hz. Converteu-se a taxa de amostragem de todas as gravações para 24000 Hz e os parâmetros para produzir os espectrogramas foram janela Hamming, FFT = 256, frame = 100% e 87,5% de sobreposição. Estas configurações resultaram numa largura de banda de 122 Hz, resolução de frequência de 94 Hz e resolução de tempo de 1,3 ms. Quando necessário usou-se um filtro de 2 kHz passa-alto, para eliminar ruídos de baixa frequência.

A análise estatística foi realizada com o software IBM SPSS Statistics 19 e os gráficos foram produzidos com o SigmaPlot para Windows versão 11.0, salvo indicação em contrário.

Referências

- Behnke, J. M., McGregor, P. K., Shepherd, M., Wiles, R., Barnard, C., Gilbert, F. S. and Hurst, J. L. 1995. Identity, prevalence and intensity of infestation with wing feather mites on birds (Passeriformes) from the Setubal Peninsula of Portugal. *Experimental and Applied Acarology*, 19, 443-458.
- Svensson, L. 1992. Identification guide to the European passerines, 4 edn. Uggå, Stockholm

CAPÍTULO 3

Variação inter-anual limitada do canto da milheirinha

(Serinus serinus)

Não te coibas de repetir o que já disseste, porque és pequeno e só assim talvez será possível que te ouçam.

Vergílio Ferreira

Resumo

Os padrões de modificação do canto, em passeriformes, após o primeiro ano de vida, têm sido pouco estudados. Diversas espécies de aves canoras foram categorizadas em “open-ended learners” ou “close-ended learners”, dependendo do padrão de plasticidade vocal relacionado com a idade. No entanto, trabalhos recentes baseados em estudos longitudinais revelaram uma gama mais ampla de plasticidade vocal na idade adulta. As milheirinhas cantam canções muito complexas, com um vasto repertório emitido de uma forma muito rígida, apenas com pequenas modificação estruturais. Porém, há pouca informação sobre alterações no canto da milheirinha com a idade.

Estudámos a plasticidade vocal de milheirinhas adultas, selvagens, através de gravações do canto realizadas durante dois anos. As análises mostram que as canções dos machos têm apenas uma variação limitada entre anos, sem aumento no tamanho do repertório e apresentam mudanças relativamente pequenas nas suas características estruturais. A produção de sílabas foi muito consistente, quer ao longo do ano quer entre anos, com muito pouca variação estrutural. O número de sílabas novas representa apenas cerca de 8% do repertório e parecem surgir a partir da fusão ou cisão de sílabas pré-existentes. Concluimos que o canto da milheirinha, sendo estruturalmente complexo, tem uma plasticidade relacionada com a idade dos indivíduos muito limitada após o primeiro ano. Levantamos a hipótese de que esta estabilidade estrutural é uma consequência da selecção de consistência do desempenho.

Introdução

A aprendizagem vocal existe em aves (Catchpole e Slater 1995) e mamíferos (Janik e Slater 1997), embora se conheça consideravelmente mais acerca dos primeiros, uma vez que a aprendizagem se tornou mais evidente desde os estudos iniciais sobre o canto das aves. Actualmente há cada vez mais evidências sobre a aprendizagem vocal em mamíferos, como é citado para pinípedes (Sanvito et al. 2007), cetáceos (Deecke et al. 2000) e primatas (Crockford et al. 2004). A aprendizagem vocal nas aves ocorre geralmente nas primeiras semanas de vida, durante um período de aprendizagem marcadamente sensitivo (Catchpole e Slater 1995, Hultsch e Todt 2004, Kroodsma 2004). Relativamente à duração desse período de aprendizagem do canto, categorizam-se as aves em ‘open-ended learners’ (Nottebohm e Nottebohm 1978, EENS et al. 1992, Gil et al. 2001) ou ‘closed-ended learners’ (Slater e Ince 1982, Eales 1985, Nordby et al. 2002), dependendo se apresentam ou não plasticidade vocal após o primeiro ano de vida. No entanto, numa revisão recente sobre alterações do canto em aves adultas, Kipper e Kiefer (2010) propuseram a categorização das aves em três grupos: as que não alteram o canto após o primeiro ano, as que mostram mudanças entre o 1º e 2º anos, e as que continuam a modificar o canto ao longo da sua vida. O grau e tipo de modificações do canto relacionados com a idade levantam questões interessantes sobre o desenvolvimento e evolução, mas ainda são necessários mais trabalhos sobre a variação anual na organização do canto (revisto em Kipper e Kiefer 2010), de modo a tornar possível algumas generalizações.

O princípio de que os repertórios maiores resultam de selecção sexual através da escolha, pelas fêmeas, foi recentemente posto em causa (Byers e Kroodsma 2009) devido à existência de resultados ambíguos em diversos estudos. Uma meta análise mais recente

revelou um pequeno, mas significativo, efeito da escolha das fêmeas na complexidade do canto, nomeadamente no tamanho do repertório (Soma e Garamszegi 2011). Supondo que grandes repertórios são seleccionados, pelo menos em parte, pela escolha do par, pode-se prever que os machos devem beneficiar do aumento do repertório com a idade. Este aumento foi descrito em alguns estudos longitudinais (Eens et al. 1992, Gil et al. 2001, Garamszegi et al. 2007, Kiefer et al. 2009; Balsby e Hansen 2010) sugerindo efeitos indiretos da seleção sexual na plasticidade vocal com a idade.

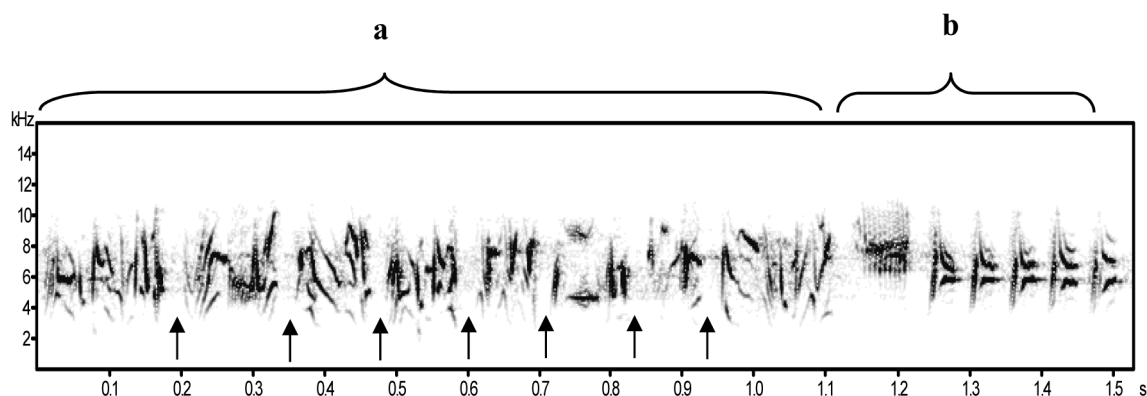


Figura 3.1 - Parte de um espectrograma de uma canção de milheirinha (indivíduo 14). Os eixos indicam a frequência (kHz) e o tempo (s). a) sílabas no modo sequencial (as setas indicam o intervalo entre sílabas); b) sílabas no modo repetitivo, em dois trilos consecutivos.

A milheirinha é um caso interessante a considerar, uma vez que o seu canto, sexualmente seleccionado pelas fêmeas, tem características muito complexas (Cardoso e Mota 2007). É um carduelíneo monogâmico, não territorial, residente ou parcialmente migrador na Península Ibérica, em que os machos apresentam uma elevada filopatria (Conroy et al. 2002). O canto dos machos tem claramente uma função inter sexual (Mota e Depraz 2004), embora seja admissível uma possível função em disputas entre machos (Cardoso e

Mota 2007). As canções são separadas por intervalos relativamente grandes ($>1s$) e são constituídas por sequências de sílabas diferentes (Figura 3.1 a) e sílabas repetidas ou trinados (Figura 3.1 b), presentes na maioria das canções. As sílabas são emitidas em longas sequências, de uma forma muito estereotipada (Mota e Cardoso 2001), havendo a formação de loops e sequências repetidas nas canções mais longas.. A duração das canções varia consideravelmente (de 1s a 18s; média=3s) para o mesmo indivíduo.

Neste trabalho apresenta-se o resultado de um estudo longitudinal da variação do canto de uma população selvagem de milheirinhas, para avaliar o grau de variação do canto desta espécie, entre anos, através da gravação intensiva de 14 machos em anos diferentes. Queríamos determinar se havia padrões consistentes de alteração com a idade, tais como um aumento do tamanho do repertório e/ou na complexidade do canto. Como o canto da milheirinha está sujeito a escolha pela fêmea, é de esperar que o tamanho do repertório aumente com a idade, como foi observado noutras espécies (por exemplo Garamszegi et al. 2007, Kiefer et al, 2009, Balsby e Hansen 2010), para sinalizar idade e experiência a potenciais parceiros. Também é expectável que a complexidade do canto aumente com a idade. Se a complexidade do canto é um ornamento extravagante que evoluiu por seleção sexual (Searcy & Yasukawa 1996), então os machos beneficiariam por cantar canções mais complexas e de complexidade crescente com a idade.

Material e Métodos

Área de estudo

Gravámos 14 milheirinhas selvagens numa área a cerca de 14 km W de Coimbra, Portugal, perto da Reserva Natural do Paul de Arzila, (40° 10' N; 8° 32' W) (ver Mota e Hoi Leitner 2003 para detalhes). As aves foram gravadas entre 2002 e 2007. De todos os indivíduos, apenas um foi gravado com um ano de intervalo, tendo os restantes sido gravados em dois anos consecutivos. Após a confirmação de que o mesmo padrão das 13 aves se verificava para a 14^a, relativamente às alterações vocais entre anos, todas as análises posteriores se fizeram com os 14 indivíduos. Os machos adultos foram capturados com redes verticais e armadilhas especiais, no início da época reprodutiva,, medidos, determinado sexo e a idade (primeiro ano/ ≥ 2 anos) de acordo com Svensson (1992) e anilhados com uma combinação única de 4 anilhas coloridas para identificação individual. Todos os indivíduos foram gravados com dois ou mais anos de idade.

Recolha e análise de dados

As gravações foram feitas entre as 07:00 h e as 12:00 h, de Março a Junho de cada ano, utilizando um gravador analógico (Marantz CP430), gravadores digitais (Marantz PMD670 e PMD660) e um microfone shotgun Sennheiser MKH70 com protecção contra o vento. Designamos o primeiro e segundo anos de gravação das aves como ano 1 e ano 2.

No total, foram usadas para análise 114 gravações, compreendendo 863 canções, com um esforço de gravação de 750 horas. O número médio de canções por ave foi $33,36 \pm 5,63$ para o primeiro e $28,29 \pm 1,88$ para o segundo ano de gravações. A análise

espectrográfica foi feita usando o Avisoft SASLab Pro software V.5.1.. As canções foram digitalizadas com uma frequências de amostragem de 22050, 24000 e/ou 44100 Hz. Convertemos a taxa de amostragem de todas as gravações para 24000 Hz. Os parâmetros para produzir os espectrogramas foram janela Hamming, FFT = 256, frame = 100% e 87,5% de sobreposição. Estas configurações resultaram numa largura de banda de 122 Hz, resolução de frequência de 94 Hz e resolução de tempo de 1.3 ms. Quando necessário usámos um filtro de 2 kHz passa-alto, para eliminar ruídos de baixa frequência. Medimos a complexidade do canto, duração das canções e versatilidade das canções de todas as aves nos dois anos. Quantificámos a duração total das canções; o número de inflexões de cada canção (número de vezes que uma sequência de sílabas muda para outra) e das sílabas (o número de vezes que uma modulação de frequência crescente é seguida por uma descendente ou vice-versa); duração das sílabas; frequência máxima das sílabas; frequência dominante das sílabas; duração do intervalo inter sílabico. Todos os parâmetros foram medidos usando as ferramentas de medição automática do Avisoft, exceto o número de inflexões das canções e das sílabas, que foram medidos por inspeção visual, e a duração das sílabas e dos intervalos intersilábicos, medidos usando um marcador de ajuste manual. Foram usados os mesmos critérios de Mota e Cardoso (2001) para identificar sílabas, com um limiar de 10 ms para distinguir elementos intra-silábicos de sílabas. Todos os parâmetros foram obtidos por uma única pessoa (AM). Quando a qualidade de uma gravação impedia a recolha de dados fiáveis, esta era descartada. Foram desenhados diagramas lineares, como em Mota e Cardoso (2001), para representar a sequência de sílabas em cada ano e para medir o número de sequências iniciais diferentes das canções (Figura 3.2) que são em número reduzido (geralmente entre 1 e 3). Os diagramas só representam sílabas que apareceram em mais de 10% das gravações e transições que representavam mais de 15% das sequências. Para todas as aves foi

analisado um número mínimo de 15 canções em cada ano, uma amostra considerada adequada para esta análise (devido à estrutura cíclica das canções da milheirinha, rapidamente as curvas cumulativas de medição de tamanho de repertório (Figura 3.3) convergem assintoticamente). Calculámos o tamanho do repertório de cada indivíduo pelo número total de sílabas diferentes, em cada ano. Como medida de similaridade do repertório entre os dois anos usámos o coeficiente de DICE (Dice 1945) ($DC = (2 * N/N1 + N2)$), em que N é o número de sílabas comuns aos dois anos, N1 e N2 são os números totais de sílabas diferentes de cada ano (N1 – ano1; N2 – ano 2). Medimos as alterações na taxa de ocorrência das sílabas entre anos, comparando a taxa de ocorrência de cada sílaba, expressa como o número de vezes que cada sílaba comum aos dois anos foi cantada, proporcionalmente a todas as sílabas cantadas por cada ave em cada ano de gravações, para todas as sílabas ($(N \text{ } ^\circ\text{Syl}/N \text{ TotalSilabas}) \times 100$). Para comparar a variação na taxa de ocorrência, usaram-se correlações não paramétricas de Spearman por ranks. Através de análise visual, verificamos também a posição das sílabas novas nas canções do 2º ano, bem como os locais em que se verificava supressão de sílabas/sequências, para um subconjunto aleatoriamente escolhido de 8 machos, uma amostra suficiente, considerando o nível de variação existente, a fim de determinar o padrão de modificação do canto na estrutura silábica entre anos.

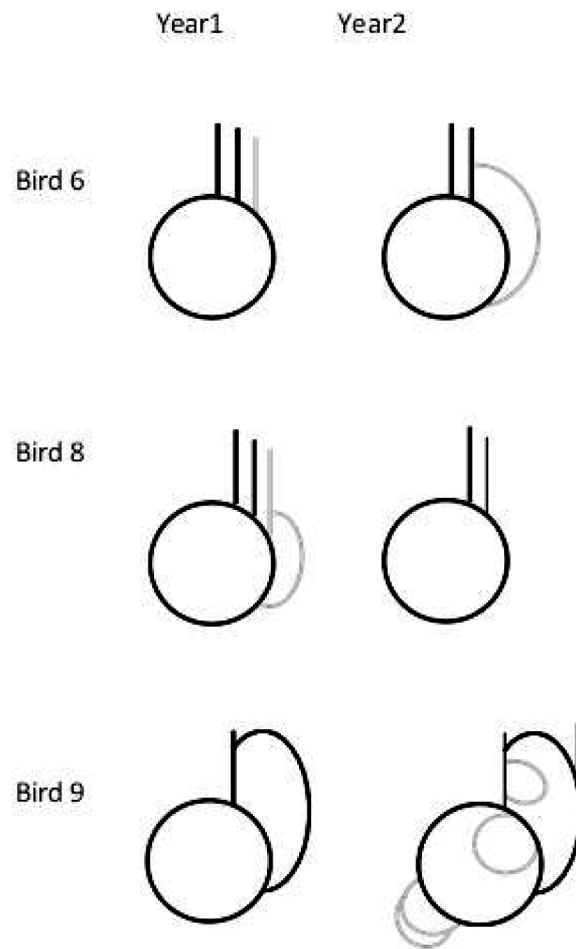


Figura 3.2 - Diagramas circulares representativos da estrutura da canção de três aves (6, 8 E 9), mostrando as diferenças (linhas cinza) entre o ano1 (*Year1*) (supressões posteriores) e ano 2 (*Year2*) (adições). As linhas representam sequências de sílabas e permitem a visualização da existência de loops, embora eles não sejam proporcionais à duração das canções. Qualquer canção pode ser interrompida em qualquer parte do diagrama cíclico. Os diagramas são lidos no sentido horário, e os traços verticais representam as sequências de início das canções

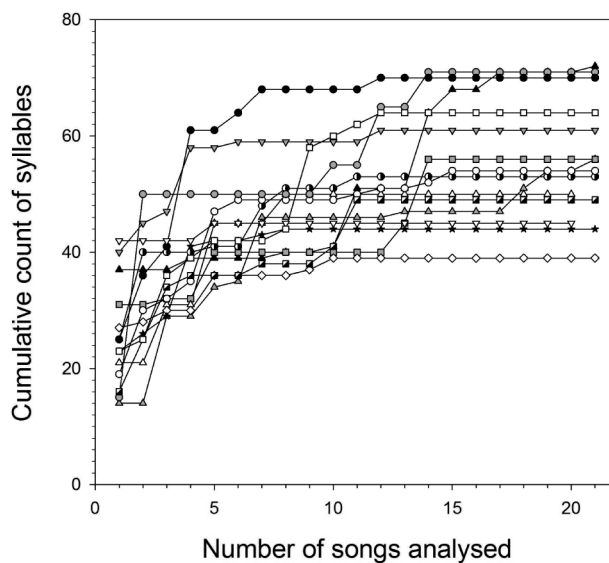


Figura 3.3 - Curvas cumulativas de repertórios de 14 aves para uma amostra de 22 canções por ave, relacionando o número cumulativo de sílabas com o número de músicas da amostra. Cada curva representa o registo de um macho durante um ano.

Para reduzir o número de variáveis, efectuou-se uma Análise de Componentes Principais (ACP) com as variáveis número de sílabas por canção, duração da canção, número de inflexões da canção e o número de diferentes sequências de início das canções. Os factores de carga (factor loadings) das variáveis originais estão apresentados na tabela I. A primeira componente (CP1) explica 49% do total da variação e foi usada para testar a variação no canto entre anos.

Tabela I – Factores de carga (*factor loadings*) das variáveis originais da primeira componente (CP1) de uma análise de componentes principais para uma redução de variáveis.

Variáveis	CP1
Duração total das canções	.883
Número de sílabas/canção	.881
Número sequências iniciais	.583
Número de inflexões canção	.618

A estabilidade de desempenho das sílabas entre anos foi testada através da medição de vários parâmetros silábicos e da sua comparação entre canções de anos diferentes. Foram usadas cinco sílabas executadas nos dois anos e amostradas 7 vezes em cada um, para uma amostra aleatória de 9 indivíduos. As medidas usadas para cada sílaba foram duração da sílaba, frequência máxima, frequência dominante e intervalo intersilábico. Para cada variável medida foram calculados os coeficientes de variação (CV) com base nas sete amostras referidas tendo sido usados como unidades quantificáveis de consistência. Para testar a existência de uma variação inter-anual significativa na consistência das sílabas, fez-se uma análise dos coeficientes de variação usando uma Equação de Estimativa Generalizada (Generalized Estimating Equation - GEE), usando cada ave como sujeito, os CV das sílabas embebidos na Ave e o Ano como medida repetitiva. A hipótese a testar foi a existência de variação inter-anual significativa na consistência silábica.

Todas as variáveis foram testadas quanto à normalidade e homogeneidade (teste de esfericidade de Mauchly). Os dados são apresentados como média \pm SE. Foi usada uma distribuição gama para testar o coeficiente de variação da duração e frequência dominante das sílabas. As comparações entre anos foram realizadas com ANOVAs para medidas repetidas, salvo indicação em contrário. As análises estatísticas foram realizadas com SPSS Statistics 19.

Resultados

Variação do canto

Foi testada a variação do canto de machos de milheirinha entre dois anos, comparando a primeira componente (CP1) de um ACP da duração das canções, número de sílabas novas por canção, número de diferentes sequências de início das canções e número de inflexões da canção e não se encontrou qualquer variação significativa entre anos ($F_{[1,13]} = 2,24$, $p = 0,158$), o que revela uma estrutura muito estável nas canções entre os anos. Também o tamanho do repertório não variou entre anos ($F_{[1,13]} = 0,038$, $p = 0,85$) indicando que não há aumento do número de sílabas com a idade.

Variação silábica

A similaridade do repertório entre anos foi alta para todas as aves (coeficiente DICE = $0.85 \pm 0,029$). Apenas um indivíduo divergiu desse padrão, revelando um coeficiente de similaridade baixo ($DC = 0,57$). Esta ave é um caso especial, pois apresentou um canto muito atípico, com canções muito curtas durante o primeiro ano de gravações. No

segundo ano desta ave, apesar da duração das canções estar dentro da média, a partilha de sílabas foi muito baixa, com um número de sílabas novas muito elevado. Houve alguma variação na taxa de ocorrência das sílabas (Figura 3.4) entre anos, havendo algumas sílabas raras no 1º ano de gravação mas frequentes durante o segundo, ou o inverso. No entanto, esta variação foi pequena para a maioria das aves. Para 12 dos 14 machos há uma correlação altamente significativa na taxa de ocorrência de sílabas entre anos (todos excepto um com $p < 0,0001$; indivíduo 12 $p < 0,001$) o que indica que as sílabas foram utilizados em proporções muito semelhantes nos dois anos de gravação considerados. Apenas as aves 1 e 8 não apresentaram correlações significativas na taxa de ocorrência de sílabas entre anos, embora fosse quase significativa para a ave 8 ($r = 0,3$, $n = 39$, $p = 0,061$). Como já foi referido, o indivíduo 1 tinha canções muito curtas no primeiro ano e um número considerável de novas sílabas no segundo ano, resultando na modificação da proporção relativa do uso de sílabas entre anos.

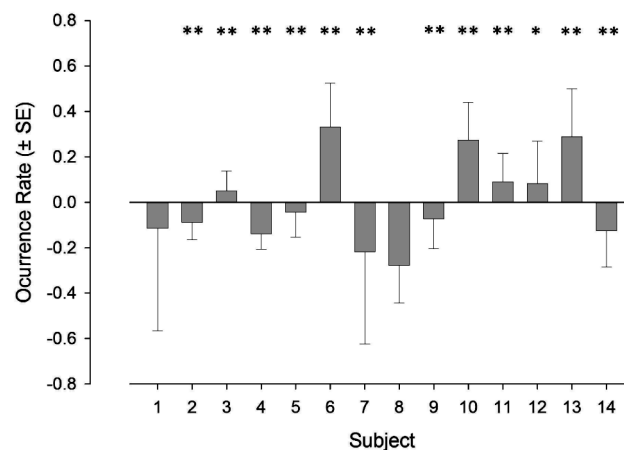


Figura 3.4 - Variação da taxa de ocorrência (occurrence rate) de todas as sílabas gravadas em ambos os anos ((Ano2 - Ano1) ± EP), para cada ave (subject) em dois anos de gravações (taxa de ocorrência para cada sílaba = $(N^\circ \text{ Ocorrencias} / N^\circ \text{ Total sílabas}) \times 100$). Os asteriscos indicam valores significativos de correlações de Spearman na ocorrência de sílaba entre os anos para cada ave (* $p < 0,001$, ** $p < 0,0001$). Amplitude da amostra: 16-52.

Foram registadas sílabas novas no segundo ano de gravações para todas as aves (Figura 3.5 A). Também para todas se verificou a supressão de sílabas ou pequenas sequências (Figura 3.5 B). Uma descoberta inesperada foi a fusão (Figura 3.5 D) ou divisão de sílabas (Figura 3.5 C), formadas a partir de sílabas simples do ano anterior. No entanto, o aparecimento de novas sílabas representa apenas 7,68%, uma variação bastante limitada e um valor semelhante à perda de sílabas entre anos (7%). As sílabas novas não aparecem aleatoriamente distribuídas nas canções. A maioria das sílabas novas (94,8%) substituiu sílabas antigas nas mesmas posições da canção.

Consistência silábica

Testámos o aumento da consistência das sílabas entre anos, que poderia ser um indicador de melhor desempenho vocal resultante da experiência. Foram comparados os coeficientes de variação (CV) de sílabas produzidas entre os anos para um subconjunto de 9 indivíduos (Tabela II). Não foram encontradas diferenças nos CV entre anos em todas as variáveis: frequência, duração máxima da sílaba, frequência dominante da sílaba e intervalos inter-silábicos. Apenas os valores de frequência máxima mostraram uma tendência não significativa para uma maior consistência ($F_{[1,8]} = 3,016$, $p = 0,082$) no segundo ano.

Tabela II – Teste à consistência silábica entre anos através de uma análise dos coeficientes de variação usando uma Equação de Estimativa Generalizada (Generalized Estimating Equation - GEE), com Wald X^2 e valores de significância (p). As variáveis usadas foram os coeficientes de variação (CV) das variáveis de canto originais: SyDurT – duração silábica; SyFmax – frequência silábica máxima; SyFDom – frequência silábica dominante; SyInt – intervalo inter-silábico.

<i>Variables</i>	Y1		Y2		<i>W</i>	<i>p</i>
	<i>X</i>	<i>EP</i>	<i>X</i>	<i>EP</i>		
SyDur	0,044	0,006	0,048	0,004	0,008	0,927
SyFmax	0,028	0,003	0,023	0,002	3,016	0,082
SyFDom	0,061	0,008	0,048	0,006	1,443	0,230
SyInt	0,141	0,009	0,138	0,011	0,096	0,756

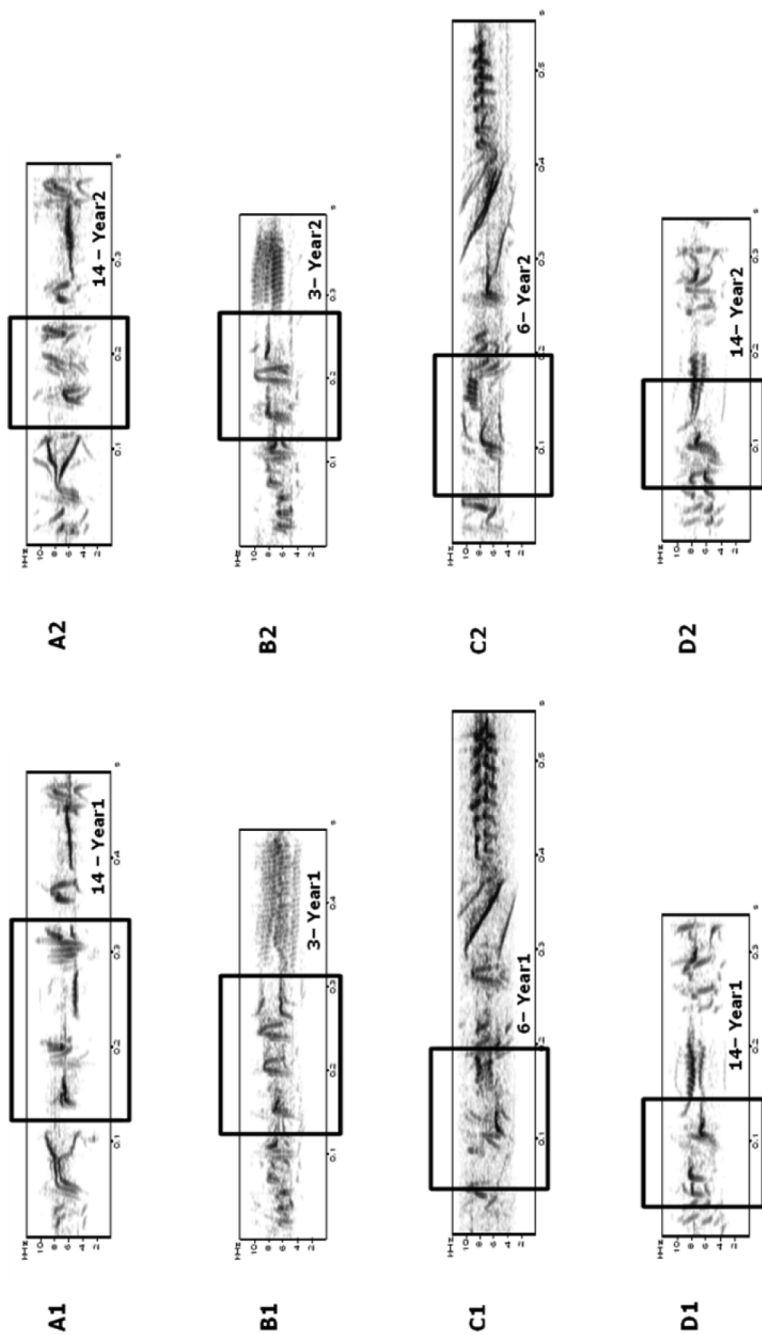


Figura 3.5 - Sonogramas ilustrativos da variação nas seqüências de sílabas (frequência(kHz), ao longo do tempo(s)) entre anos, representando seções do canto de diferentes indivíduos, identificados nos sonogramas, onde as mudanças ocorreram. Os retângulos destacam essas mudanças: A - perda de sílaba (s); B - perda de parte de uma sílaba; C - substituição de parte de uma sílaba e D-fusão de uma sílaba com a anterior.

Discussão

Este estudo revela que existe pouca variação na estrutura do canto da milheirinha entre anos, mostrando uma flexibilidade do canto muito limitada. O tamanho do repertório não aumenta com a idade e parece não ser indicador da idade dos indivíduos. Verificase o mesmo para as outras variáveis estruturais das canções. Além disso, a organização sequencial das sílabas nas canções manteve-se maioritariamente inalterada e o desempenho das sílabas foi muito consistente, quer entre anos quer no mesmo ano. As duas hipóteses iniciais não foram confirmadas, uma vez que o tamanho do repertório e a complexidade do canto não sofreram alteração com a idade.

Modificação do canto com a idade

A divisão entre “open-ended” e “closed-ended learners” revelou-se útil até se ter tornado evidente que há uma enorme diversidade de programas de aprendizagem do canto (Beecher e Brenowitz, 2005). Estudos longitudinais como o que foi realizado são especialmente necessários para determinar a existência de aprendizagem vocal e qual o grau de flexibilidade do canto na idade adulta. Este tipo de estudos são particularmente importantes em mamíferos, para afastar a possibilidade da existência de uma base genética em dialectos (Deeke et al. 2000, Sanvito et al. 2007). São também importantes nas aves para determinar se o tamanho do repertório aumenta com a idade. A milheirinha é uma espécie com um canto muito complexo (Cardoso e Mota, 2007) e um repertório composto por um grande número de sílabas (40-87 sílabas neste estudo; 42-66 sílabas em Mota e Cardoso, 2001), executadas de uma forma muito rígida, de modo que as sequências de sílabas são altamente previsíveis, mesmo em longas sequências.

Neste estudo verificámos que há uma variação muito limitada do repertório e também da estrutura das canções entre anos. No entanto, não podemos excluir a possibilidade de existência de uma maior variação até ao final do 1º ano de vida destes indivíduos, uma vez que a maior variação no repertório das aves ocorre entre o primeiro e o segundo anos de vida (Kipper and Kiefer 2010) e os 14 machos gravados neste estudo tinham dois ou mais anos. O canário é a espécie mais próxima da milheirinha (Zuccon et al. 2012) e, embora anteriormente considerado um “open-ended learner”, com uma aprendizagem de canto contínua ao longo da vida (Nottebohm e Nottebohm 1978, Nottebohm et al. 1986), trabalhos mais recentes revelaram que a variação do canto dos canários selvagens é muito mais limitada, tanto em populações naturais (Leitner et al. 2001) como em laboratório (Voigt e Leitner 2008). Este padrão não difere muito daquele que descrevemos para a milheirinha.

As alterações encontradas entre anos nas sequências de sílabas foram principalmente substituições de sílaba ou fusão de sílabas anteriormente adjacentes. Este é um resultado inesperado, uma vez que não temos conhecimento de estudos anteriores que documentem a formação de sílabas novas no repertório de uma ave pela fusão de sílabas anteriormente distintas produzidas pelo mesmo indivíduo. Constitui, em certa medida, uma exceção interessante à noção empiricamente estabelecida de que as sílabas são unidades modulares de produção motora do canto (Cynx 1990, Williams e Staples 1992, Franz e Goller 2002). A ocorrência de alterações no canto relacionadas com a idade, pode ser devido a modificações morfológicas do aparelho vocal ou alterações neuro-cognitivas. Kipper e Kiefer (2010) sugeriram duas possibilidades para a segunda hipótese. As aves podem aprender activamente novos elementos na idade adulta e reproduzi-los, ou podem ouvir e memorizar elementos, mas não os usar no início da vida, e só os reproduzir em anos posteriores. Considerando os rearranjos que

encontramos nas canções de milheirinha, ou seja, a fusão e divisão de sílabas entre os anos, abre-se a possibilidade de um terceiro processo de reorganização interna, que não envolve aprendizagem, mas, em vez disso, a capacidade de alteração de sílabas, pela sua divisão ou a remoção de partes de sílabas ou fusão de sílabas adjacentes.

Alterações relacionadas com a idade e seleção sexual

Tem sido feita uma associação entre repertórios extensos e seleção inter-sexual de canções mais longas e mais complexas (Mountjoy e Lemon 1995, Searcy e Yasukawa 1999, Buchanan e Catchpole 1997, Beecher e Brenowitz 2005). Duas revisões recentes fornecem uma perspectiva menos clara, ambas sem encontrar um efeito do tamanho do repertório no sucesso reprodutivo. Enquanto Byers e Kroodsma (2009) encontraram resultados ambíguos com alguns efeitos negativos e outros positivos, Soma e Garamszegi (2011) encontraram um efeito ténue mas significativo através de uma meta-análise de dados publicados e não publicados, sugerindo que o efeito existe mas não é tão forte como se pensava. O canto da milheirinha é importante na estimulação das fêmeas para a reprodução e construção do ninho (Mota 1999, Mota e Depraz 2004) e é uma característica sexualmente seleccionada pelas fêmeas (Cardoso et al., 2007). Assim, seria de esperar que a complexidade do canto e tamanho do repertório aumentariam com a idade, algo que os resultados apresentados não confirmam. Foram realizados nos últimos anos vários estudos longitudinais. De uma modo geral referem um aumento no tamanho do repertório com a idade (toutinegras do salgueiro *Phylloscopus trochilus*, Gil et al. 2001; papa-moscas de colarinho *Ficedula albicollis*, Garamszegi et al. 2007; felosa dos juncos *Acrocephalus schoenobaenus*, Nicholson et al. 2007; rouxinol comun *Luscinia luscinia*, Kiefer et al. 2009 e papa-amoras-comum

Sylvia communis, Balsby e Hansen 2010), mas não em todas as espécies (pardal cantor *Melospiza melodia*, Nordby et al. 2002) ou populações (rouxinol-grande-dos-caniços *Acrocephalus arundinaceus*, Forstmeier et al. 2006; e. chapim real *Parus major*, Rivera-Gutierrez 2011). Uma possibilidade é a de que o aumento do repertório com a idade é principalmente influenciado pela partilha de canções/sílabas em espécies territoriais - todos os exemplos acima referidos dizem respeito a espécies territoriais. Outra, é a existência de limitações motoras, que restringem o aumento do número de sílabas (Eriksen et al 2011).

Seleção sexual e restrições motoras

Características, como a consistência, podem desempenhar um papel importante na plasticidade vocal na idade adulta (Podos et al. 2009). A consistência no desempenho vocal, em particular, pode ser um indicador da integridade cerebral e há indícios de que esta pode ser sexualmente selecionada (Sakata e Vehrencamp 2012). A existência de limites de desempenho no canto das aves foi demonstrado anteriormente (Podos 1997) e foi proposto que as restrições motoras podem limitar a evolução do canto pela seleção natural e sexual (Podos et al. 2004), de modo que algumas características podem ser levadas ao limite da execução vocal. Nesta espécie, o desempenho vocal já está perto do limite da capacidade motora dos indivíduos (Cardoso e Mota 2007), de modo que se torna muito difícil mudar as sequências já aprendidas, sem o risco de erros e perda de consistência na produção do som (Podos et al. 2009). Isto poderia explicar a enorme rigidez na estrutura do canto da milheirinha. Concluiu-se que as sílabas são executadas com elevada consistência nos dois anos de gravação, não havendo alteração desta característica com a idade, ao contrário do que foi descrito nalguns estudos recentes

(Botero et al. 2009, Rivera-Gutierrez et al. 2010). É possível que, para produzir sequências tão compactas e complexas de sons, esta espécie necessite de manter as sequências tão rígidas quanto possível, a fim de evitar erros e perder consistência no desempenho vocal. No limite, a estereotipia pode ser uma necessidade.

Referências

- Balsby TJS, Hansen P. 2010. Element repertoire: change and development with age in Whitethroat (*Sylvia communis*) song. *J Ornithol.* 151:469-476.
- Beecher MD, Brenowitz EA. 2005. Functional aspects of song learning in songbirds. *Trends Ecol Evol.* 20:143-149.
- Botero CA, Rossman R, Caro L, Stenzeler L, Lovette I, de Koort S, Vehrencamp S. 2009. Syllable type consistency is related to age, social status and reproductive success in the tropical mockingbird. *Anim Behav.* 77:701-706.
- Brenowitz EA, Beecher MD. 2005. Song learning in birds: diversity and plasticity, opportunities and challenges. *Trends Neurosci.*28:127-132.
- Buchanan K, Catchpole C. 1997. Female choice in the sedge warbler, *Acrocephalus schoenobaenus*: multiple cues from song and territory quality. *Proc R SocLond B.* 264:521-526.
- Byers BE, Kroodsma D. 2009. Female mate choice and songbird song repertoires. *Anim Behav.* 77:13-22.
- Cardoso GC, Mota, PG. 2007: Song diversification and complexity in canaries and seedeaters (*Serinus* spp.). *Biol J Linn Soc.* 92:183-194.
- Cardoso GC, Mota PG, Depraz V. 2007.: Female and male serins (*Serinus serinus*) respond differently to derived song traits. *Behav Ecol Sociobiol.* 61:1425-1436.

- Catchpole C, Slater P. 1995. Bird song. Biological themes and variations. Cambridge, Cambridge Univ. Press.
- Conroy M, Senar JC, Domènech J. 2002. Analysis of individual- and time-specific covariate effects on survival of *Serinus serinus* in north-eastern Spain. *J Appl Stat.* 29:125-142.
- Crockford C., Herbinger I, Vigilant L, Boesch C. 2004. Wild chimpanzees produce group-specific calls: a case for vocal learning? *Ethology.* 110:221-243.
- Cynx J. 1990: Experimental determination of a unit of song production in the zebra finch (*Taeniopygia guttata*). *J Comp Psychol.* 104:3-10.
- Deecke VB, Ford JKB, Spong P. 2000. Dialect Change in Resident Killer Whales (*Orcinus orca*): Implications for Vocal Learning and Cultural Transmission. *Anim Behav.* 60:619-638.
- Dice LR. 1945. Measures of the amount of ecologic association between species. *Ecology.* 26:297-302.
- Eales L. 1985: Song learning in zebra finches: some effects of song model availability on what is learnt and when. *Anim. Behav.* 44:1131-1143.
- Eens M, Pinxten R, Verheyen R. 1992. Song learning in captive European starlings *Sturnus vulgaris*. *Anim Behav.* 44:1131-1143.
- Eriksen A, Slagsvold, T, Lampe H. 2011. Vocal plasticity – are pied flycatchers, *Ficedula hypoleuca*, open-ended learners? *Ethology.* 117:188-198.
- Forstmeier W, Hasselquist D, Bensch S, Leisler B. 2006. Does song reflect age and viability? A comparison between two populations of the great reed warbler *Acrocephalus arundinaceus*. *Behav Ecol Sociobiol.* 59:634-643.
- Franz M, Goller F. 2002. Respiratory units of motor production and song imitation in the zebra finch. *J Neurobiol.* 51:129-141.

- Garamszegi LZ, Török J, Hegyi G, Szöllösi E, Rosivall B, Eens M. 2007. Age-dependent expression of song in the collared flycatcher, *Ficedula albicollis*. *Ethology*. 113:246-256.
- Gil D, Cobb JLS, Slater, PJB. 2001. Song characteristics are age dependent in the willow warbler, *Phylloscopus trochilus*. *Anim Behav*. 62:689-694.
- Hultsch, H, Todt D. 2004. Learning to sing. In *Nature's Music: The Science of Birdsong* (P. Marler and H. Slabbekoorn, eds.). Amsterdam The Netherlands: Elsevier/Academic Press. pp. 80–107.
- Janik VM, Slater PJB. 1997: Vocal learning in mammals. *Adv Study Behav*. 26:59-99.
- Kiefer S, Sommer C, Scharff C, Kipper S, Mundry R. 2009. Tuning towards tomorrow? Common nightingales *Luscinia megarhynchos* change and increase their song repertoires from the first to the second breeding season. *J Avian Biol*. 40:231-236.
- Kipper S, Kiefer S. 2010. Age-Related Changes in Birds' Singing Styles: On Fresh Tunes and Fading Voices? *Adv Study Behav*. 41:77-118.
- Kroodsma D. 2004: The diversity and plasticity of birdsong. In: *Nature's music. The science of birdsong* (Marler, P. & Slabbekoorn, H. eds). Elsevier, San Diego. pp. 108-131.
- Leitner S, Voigt C, Gahr M. 2001. Seasonal changes in the song pattern of the non-domesticated island canary (*Serinus canaria*), a field study. *Behaviour*. 138:885-904.
- Mota PG. 1999. The functions of song in the Serin (*Serinus serinus*). *Ethology*. 105:137-148.
- Mota PG, Cardoso G. 2001. Song organisation and patterns of variation in the serin (*Serinus serinus*). *Acta.Ethol*. 3:141-150.
- Mota PG, Depraz V. 2004. Male song affects female nesting behaviour in the Serin

- (*Serinus serinus*): a field playback experiment. *Ethology*. 110:841-850.
- Mota PG, Hoi-Leitner M. 2003. Intense extrapair behaviour in a semicolonial passerine does not result in extrapair fertilizations. *Anim Behav*. 66:1019-1026.
- Mountjoy D, Lemon R. 1995: Extended song learning in wild European starlings. *Anim Behav*. 49:357-366.
- Nicholson JS, Buchanan KL, Marshall RC, Catchpole CK.. 2007. Song sharing and repertoire size in the sedge warbler, *Acrocephalus schoenobaenus*: changes within and between years. *Anim Behav*. 74:1585-1592.
- Nordby JC, Campbell SE, Beecher MD. 2002: Adult song sparrows do not alter their song repertoires. *Ethology*. 108:39-50.
- Nottebohm Fe Nottebohm M. E. 1978. Relationship between song repertoire and age in the canary, *Serinus canaria*. *Z. Tierpsychol*. 46:298-305.
- Nottebohm F, Nottebohm ME, Crane LA. 1986. Developmental and seasonal changes in canary song and their relation to changes in the anatomy of song control nuclei. *Behav Neural Biol*. 46:445- 471.
- Podos J. 1997. A performance constraint on the evolution of trilled vocalizations in a songbird family (Passeriformes: Emberizidae). *Evolution* .51:537-551.
- Podos J, Huber SK, Taft B. 2004. Bird song: The interface of evolution and mechanism. *Ann Rev Eco. Evo. Syst*. 35:55-87.
- Podos J, Laht, DC, Moseley DL. 2009. Vocal Performance and Sensorimotor Learning in Songbirds. *Adv Study Behav*.. 40:159-195.
- Rivera-Gutierrez HF, Pinxten R, Eens M. 2010. Multiple signals for multiple messages: great tit, *Parus major*, song signals age and survival. *Anim Behav* 80:451-459.
- Rivera-Gutierrez HF, Pinxten R, Eens M. 2011. Difficulties when assessing birdsong learning programmes under field conditions: a re-evaluation of song repertoire

flexibility in the Great Tit. *Plos One*. 6:1-8.

Sakata J, Vehrencamp S. 2012. Integrating perspectives on vocal performance and consistency. *J Exp Biol*. 215:201-209.

Sanvito S, Galimberti F, Miller EH. 2007. Observational evidences of vocal learning in southern elephant seals: A longitudinal study. *Ethology*. 113:137-146.

Searcy W, Yasukawa K. 1996. Song and female choice. In: *Ecology and evolution of acoustic communication in birds* (Kroodsma, D. & Miller, E. H. eds). Cornell University Press, Ithaca. pp. 454-473.

Slater PJB, Ince SA. 1982. Song development in chaffinches: what is learnt and when. *Ibis*. 124:21-26.

Soma M, Garamszegi LZ. 2011. Rethinking birdsong evolution: meta-analysis of the relationship between song complexity and reproductive success. *Behav Ecol*. 22:363-371.

Svensson L. 1992. Identification guide to European passerines. Private publ, Stockolm.

Voigt C, Leitner S. 2008. Seasonality in song behaviour revisited: Seasonal and annual variants and invariants in the song of the domesticated canary (*Serinus canaria*). *Horm Behav*. 54:373-378.

Williams H, Staples K. 1992. Syllable chunking in zebra finch (*Taeniopygia guttata*) song. *J Comp Psychol*. 106:278-286.

Zuccon D, Prys-Jones R, Rasmussen PC, Ericson PG. 2012. The phylogenetic relationships and generic limits of finches (Fringillidae). *Mol Phyl Evol*. 62:414-426.

CAPÍTULO 4

As diferenças no canto não reflectem diferenças no tamanho corporal entre machos de duas espécies de aves canoras

Music . . . can name the unnameable and communicate the unknowable.

Leonard Bernstein

Resumo

Os animais de grande porte, com grandes aparelhos vocais, produzem sons de baixas frequências de forma mais eficiente. Assim, a frequência das vocalizações está muitas vezes negativamente relacionada com o tamanho do corpo entre as espécies, e também entre os indivíduos de muitas espécies, incluindo várias aves sub-oscíneos (aves não canoras). Pouco se sabe acerca da possibilidade da frequência do canto revelar informações sobre o tamanho do corpo em espécies de aves canoras (oscíneos), que se caracterizam pela aprendizagem do canto e repertórios de grandes dimensões. Questionámos se a frequência das canções está relacionada com o tamanho do corpo em duas espécie de oscíneos que diferem no tamanho do repertório: o junco (*Junco hyemalis*) e a milheirinha (*Serinus Serinus*). Também queríamos saber se a amostra do repertório pode influenciar a confiança dos receptores na avaliação do tamanho corporal. Concluimos que nenhuma das características de frequência do canto que nós investigámos se relaciona com o tamanho corporal dos machos, nem amostragens mais amplas do repertório indicam qualquer relação entre frequência e tamanho do corpo. As possíveis razões para estes resultados são o pequeno intervalo de variação do tamanho dos indivíduos dentro de cada espécie, ou a fisiologia vocal elaborado dos oscíneos, que lhes dá grande controle sobre uma ampla faixa de frequências. Discutimos estes resultados visto que eles se relacionam com a preferências das fêmeas por canções com frequência elevada, como já foi previamente descrito para espécies de oscíneos.

Introdução

As diferenças no tamanho corporal entre animais da mesma espécie muitas vezes são factores determinantes na capacidade competitiva ou na qualidade genética (Andersson 1994). Assim, tanto em interações competitivas como em contextos de escolha de par, deve ser vantajoso avaliar o tamanho dos indivíduos da mesma espécie. Em muitas espécies, a frequência das vocalizações revela informações sobre o tamanho do corpo ou massa (por exemplo, insetos: Brown et al. 1996; peixes: Ladich 1998; Amorim e Hawkings 2005, de Jong et al. 2007, anuros: revisão de Searcy e Nowicki 2005; répteis: Hibbitts et al. 2007; mamíferos: Pfefferle e Fischer 2006, ver também revisão de Searcy e Nowicki 2005; aves sub oscíneas: Guillotin e Jouventin 1980, Appleby e Redpath 1997, Barbaud et al. 2000, Miyasaki & Waas 2003, Madsen et al. 2004, Hardouin et al. 2007, Mager et al. 2007), o que é interpretado como uma forma de escolher machos maiores que são ou mais competitivos ou de melhor qualidade (Davies & Halliday 1978; Ladich 1998; Seddon et al. 2004). Relativamente ao canto dos oscíneos, existe entre espécies uma relação negativa entre frequência e tamanho corporal (e.g. Bergmann 1976, Bowman 1979, Wallschlager 1980 Ryan e Brenowitz 1985, Badyaev e Leaf 1997, ver também Cardoso e Mota 2007), mas não é muito claro se esta relação existe dentro da mesma espécie, porque as diferenças no tamanho entre conspécíficos são geralmente pequenas, assim como as diferenças previstas de frequência. Os estudos com indivíduos da mesma espécie são poucos e com resultados contraditórios. Shubert (1976) verificou que no dom-fafe (*Pyrrhula pyrrhula*) as canções dos machos têm frequências baixas. No entanto, o estudo foi feito usando subespécies diferentes que diferiam consideravelmente no tamanho. Shy (1983) e Hanford e Loughheed (1991) gravaram sanhaçu-vermelho (*Piranga rubra*) e tico-tico (*Zonotrichia capensis*) machos em populações variadas, e verificaram que a frequência de canto não correspondia a

diferenças do tamanho corporal entre populações. Galeotti et al. (1997) confirmaram que a frequência de amplitude máxima de um componente específico do canto da andorinha (*Hirundo rustica*), o *rattle*, está negativamente correlacionada com a massa corporal. Logue et al. (2007) referiram que, em *Thryothorus fasciatoventris*, parece não haver relação entre o tamanho do corpo e a frequência do canto, depois de controlarem as diferenças no tamanho entre machos e fêmeas. Finalmente, Irwin et al. (2008) verificaram que, apesar das suas pequenas dimensões, o canto de felosa-troquilóide (*Phylloscopus trochiloides*) apresenta frequências mínimas baixas, presumivelmente porque as populações desta espécie são sujeitas a forte selecção sexual. Assim, existem poucas evidências sobre se as aves receptoras usam o canto para obter informação sobre o tamanho de conspécíficos, dentro das suas populações.

A preferência das fêmeas de oscíneos por determinadas frequências de canto, parece ser diferente do que é normalmente encontrado noutras taxa. Até agora, em três de quatro espécies de oscíneos testadas, as fêmeas respondem mais a cantos com frequências altas (melro, *Turdus merula*: Dabelsteen e Pederson 1993; escrevedeira-de-garganta-branca, *Zonotrichia albicollis*: S.B. Meek, L. Ratcliffe & R. Weisman, dados não publicados, em Ratcliffe e Otter 1996; milheirinha, *Serinus serinus*: Cadoso et al. 2007, ver também Pasteau et al. 2007 para resultados contrários com canário doméstico, *Serinus canaria*) do que à frequência de amplitude máxima do canto de andorinhas (*Hirundo rustica*). Aves como a *Dendroica pensylvanica*, que cantam com frequências altas, têm mais paternidade extra-par, sugerindo que as fêmeas preferem estes machos (Byers 2007). Esta preferência das fêmeas de oscíneos está em desacordo com o padrão habitual de serem as frequências mais baixas indicadoras da qualidade dos machos. Para perceber estas preferências precisamos de saber mais acerca da relação entre a frequência do canto em oscíneos e as diferenças no tamanho corporal nas populações.

Mais do que noutros taxa, os oscíneos têm um controle notável das frequências nas suas vocalizações. Por exemplo, em várias espécies, o lado esquerdo da siringe é especializado na produção de sons de baixa frequência, enquanto o lado direito produz frequências mais altas (Suthers 1997, Suthers et al. 2004). Além disso, muitas das qualidades tonais típicas de aves canoras são devidas a filtragem activa de harmónicas pela cavidade vocal, o que altera muito a distribuição da energia sonora na variedade de frequências durante o canto (Nowicki 1987, Riede et al. 2006). Estes e outros aspectos da fisiologia vocal de oscíneos permitem que as aves aprendam a cantar uma grande variedade de sílabas, que muitas vezes diferem na frequência, e isso pode obscurecer uma possível relação com o tamanho corporal. Portanto, para testar uma relação entre a frequência do canto e tamanho do corpo em oscíneos, devem ser considerados os potenciais efeitos da diversidade dentro dos repertórios.

Neste trabalho, testámos a relação entre a frequência da canção e o tamanho corporal em duas espécies de oscíneos – o junco e a milheirinha – aproveitando diferenças no tamanho do repertório e na organização da canção. A maioria das canções de junco consistem de uma única sílaba repetida e os machos têm um repertório de cerca de dois a sete tipos de canções (Williams e MacRoberts 1977, Newman et al. 2008). Geralmente, os machos cantam o mesmo tipo de canção por longos períodos, antes de mudar para outra, o que faz com que um receptor precise de algum tempo para ouvir o repertório completo (cerca de 2 h de canto, aproximadamente, e 350 músicas). A milheirinha, pelo contrário, não possui nenhum tipo de canção, mas tem um repertório de aproximadamente 50 sílabas diferentes, a maior parte das quais cantadas sem repetição imediata, e uma canção de duração média (3 s) contém cerca de metade do repertório (Mota e Cardoso 2001). Assim, um receptor ouve uma única canção de comprimento médio e tem uma amostra de 20 sílabas diferentes, que é uma amostragem

muito mais extensa dos tipos de sílaba do que é possível para um receptor de junco. Portanto, se a amostragem do repertório faz com que a avaliação do tamanho do corpo seja mais correcta, as canções da milheirinha seriam um indicador particularmente bom do seu tamanho. Questionámos se as características de frequência do canto nestas espécies revelam o tamanho corporal do cantor e se a amostragem do repertório melhora a segurança desta informação, ou seja, qual o grau de confiança da informação que um junco receptor obtém ouvindo apenas um único tipo de cada sílaba de cada macho, em comparação com um que escuta alguns tipos de sílaba de cada macho, em comparação com uma milheirinha receptora que escuta muitas sílabas.

Material e Métodos

Gravámos machos de junco (subespécie *Junco h. thurberii*) em duas populações, em San Diego County, Califórnia, EUA, de Fevereiro a Julho de 2006, utilizando um microfone direcional Audio-Technica AT835b (Audio-Technica, Tóquio, Japão) e um gravador digital M-Audio MicroTrack 24/96 (M-Audio, uma filial da Avid Technology, Irwindale, CA, EUA). Registamos o canto de milheirinhas machos numa população perto de Coimbra, Portugal, durante as épocas reproductivas de 2002 até 2007 usando um microfone Sennheiser MKH70 ultradirecional (Sennheiser, Wedermark-Wennenbostel, Alemanha) e gravadores de analógicos e/ou digitais (gravador analógico Marantz CP430, gravador digital Marantz PMD670 e PMD660; Marantz, Kanagawa, Japão). Todos os machos eram adultos, com o canto completo. Detalhes dos locais estudados são apresentadas na Yeh e Price (2004) e Newman et al. (2008) para juncos e Mota e Cardoso (2001) para milheirinhas. Os machos foram capturados com redes japonesas, anilhados com anilhas coloridas e medidos na mesma época reproductiva em

que foram efectuadas as gravações. Em casos raros, quando o mesmo macho foi medido mais de uma vez, fizemos a média das medições realizadas em capturas múltiplas. Para o junco, medimos o comprimento do tarso, largura do crânio, comprimento do crânio com o bico, comprimento da asa e comprimento da cauda. Para a milheirinha, medimos comprimento do tarso, altura do bico, comprimento da asa e comprimento da cauda. Como uma medida de tamanho para cada espécie, utilizaram-se os valores da componente principal (CP) que melhor representa o tamanho do corpo, a partir de um análise de componentes principais (ACP), sem rotação, sobre a matriz de correlação das medições morfológicas não transformadas. Usamos a CP em vez de uma única medida métrica, uma vez que tem a vantagem de ser uma forma mais abrangente da medida do tamanho, e por ser menos suscetível a eventuais imprecisões na medição dos traços individuais. Também pesámos os machos de ambas as espécies com uma aproximação ao decigrama. O tamanho da amostra foi de 83 juncos machos (excepto a medida do comprimento do tarso num indivíduo) e 41 serinos machos (excepto a massa corporal num indivíduo). As medições do canto foram feitas com o software Avisoft-Sas Lab (Bioacústica Avisoft, Berlim, Alemanha) através da digitalização do som com uma frequência de amostragem de 22 050 ou 24 000 Hz (tamanho 512 numa transformação Fast Fourier, o que corresponde a uma resolução de 43 ou 47 Hz, respectivamente). A frequência de amplitude máxima foi obtida a partir de espectrogramas com aplicação de um filtro de 2 kHz para eliminar o ruído de baixa frequência que era, por vezes, maior do que a frequência de amplitude máxima da canção. Os valores de frequências mínima e máxima foram medidos através da leitura dos valores do cursor sobre os espectrogramas, nas frequências visíveis mais baixas e mais altas (sem utilização de filtros). Usámos este método, pois os componentes mais suaves da canção podem ser reconhecidos visualmente, mesmo na presença do ruído de fundo, embora não sejam

reconhecidos no sistema automático de medição de frequências do software. Estas medições são exemplificados na Figura. 4.1. Por vezes, algumas harmónicas fracas ultrapassavam o valor de frequência máxima de sílabas comuns, sem harmónicas, especialmente no canto da milheirinha (por exemplo, aos 2 s, aproximadamente, na Figura 4.1) não tendo sido considerados para medir a frequência máxima. As condições de gravação (distância da vegetação, por exemplo) podem alterar a amplitude relativa de som através de frequências (por exemplo, frequências mais altas são mais atenuadas e difusas pela vegetação), mas essa variação é aleatória no que diz respeito a uma relação com tamanho corporal ou massa. A maioria das canções do junco consistem na repetição de um único tipo de sílaba (Fig. 4.1), mas algumas são constituídas por dois ou mais tipos de sílabas repetida uma de cada vez (Newman et al. 2008). Centrámos o nosso estudo nas sílabas individualmente e em gravações com mais de uma sílaba, tratámos cada uma separadamente. Para o junco, optámos por analisar até cinco canções ($X = 4.45$), por gravação, por tipo de sílaba e medimos separadamente cada sílaba em cada canção, excepto para os primeiros e últimos 10% de sílabas, que às vezes eram cantados num tom mais baixo e, portanto, poderiam ser difíceis de medir. Realizámos uma média das medidas de todas as sílabas do mesmo tipo e, em seguida, no caso das sílabas gravadas mais de uma vez para o mesmo macho, sobre as gravações do mesmo tipo de sílaba para cada macho. No caso da milheirinha, optamos por uma gravação de boa qualidade de cada macho e uma canção com mais de 3 s (duração média das canções é $4,33 \pm 1,29$ SD, $n=41$). Cada medição foi feita sobre a canção completa (Figura 4.1), simulando a situação em que um receptor integra todas as suas diferentes sílabas. De notar que para a frequência mínima, equivale a medir o valor mais baixo de todas as sílabas, o que é conveniente porque a frequência mais baixa que uma ave pode cantar pode ser a característica que é mais dependente do tamanho do corpo.

Para o junco, primeiro foi testada uma relação entre as características de frequência e o tamanho do corpo ou massa, na situação correspondente a um receptor que ouve apenas um tipo de sílaba de cada macho. Aleatoriamente, escolheu-se um tipo de sílaba de cada macho e calcularam-se as correlações de Pearson entre as características de frequência e tamanho do corpo ou massa. Para fornecer uma estimativa confiável desta correlação, repetimos a escolha aleatória de um tipo de sílaba para todos os machos, 1.000 vezes, e calculando o coeficiente de correlação em cada uma.

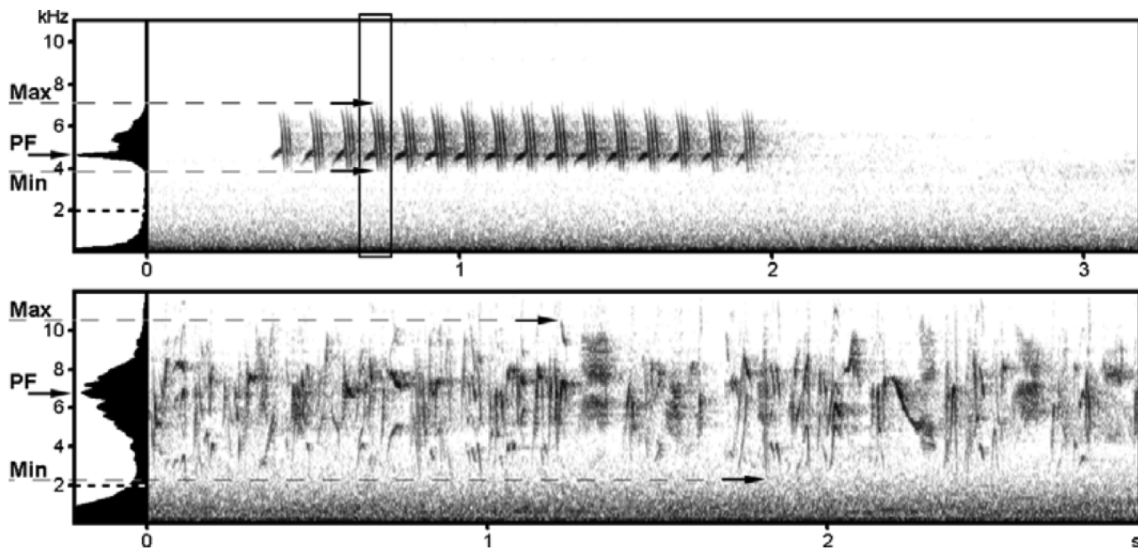


Figura 4.1 - Espectrogramas de uma canção de junco (painel superior) e parte de uma canção de serino (painel inferior), exemplificando as medições de frequência. As setas indicam a frequência máxima (Max) e mínima (Min), que são medidas no espectrograma, e a frequência de amplitude máxima (PF), que é medida no espectro médio (painéis da esquerda). No junco, as medições foram feitas sílaba a sílaba e a figura ilustra as medições efectuadas na quarta sílaba. Na milheirinha, as medições foram feitas considerando toda a canção, que é maior do que está aqui representado. As linhas tracejadas mais escuras, no espectro médio, indicam a localização do filtro passa-alto utilizado.

Calculámos o coeficiente de correlação médio, para um intervalo de confiança de 95%. Em seguida, realizaram-se testes que correspondem a uma situação em que o receptor ouve dois tipos de sílabas de cada macho (e, em seguida, três, quatro e cinco) e calcularam-se as médias dos valores obtidos ou, alternativamente, considerámos o valor de frequência mais baixo (porque o tamanho do corpo deve restringir mais as frequências mais baixas). O procedimento foi como descrito, excepto que foram escolhidas aleatoriamente dois tipos de sílabas (ou três, quatro ou cinco) de cada macho e feita a média dessas sílabas ou considerado o valor mais baixo, antes de calcular os coeficientes de correlação. O tamanho da amostra diminuiu à medida que aumentamos o número de diferentes tipos de sílabas, porque o número de machos para os quais nós registámos vários tipos de sílabas diferentes era cada vez menor. Concluimos a análise com cinco tipos de sílaba, porque o tamanho da amostra tornou-se pequeno (o número de machos gravados com seis tipos diferentes de sílabas foi apenas nove). Para a milheirinha, fizemos correlações simples de Pearson entre as características de frequência e tamanho do corpo ou massa, porque cada medida de frequência já abrange um grande número de sílabas diferentes. Na nossa amostra de gravações de junco, há 59 tipos de sílaba que são partilhados por dois ou mais machos, totalizando 72 machos. Neste subconjunto de dados, testamos uma relação entre as características de frequência e o tamanho do corpo ou massa utilizando ANOVAs univariadas, sendo a frequência a variável dependente, o tamanho do corpo ou massa a variável independente, e o tipo de sílaba controlado como um fator aleatório. Isto testa se os receptores podem obter informações sobre o tamanho corporal comparando o mesmo tipo de sílaba cantada por diferentes machos. Não realizámos uma análise semelhante para a milheirinha, porque as suas sílabas diferentes são sempre cantadas em sequências muito compactas dentro

das canções e portanto, devem ser avaliadas em conjunto pelos receptores. Utilizou-se sempre o critério de significância bicaudal de 0,05.

Resultados

A estatística descritiva para as medidas morfológicas e de frequência estão expressas na tabela III.

Tabela III - Estatística descritiva das medidas morfológicas e as características de frequência para os machos de junco e serino.

	Junco			Serino		
	n	X±SD	Coefficiente de variação (%)	n	X±SD	Coefficiente de variação (%)
Medidas morfológicas						
Comp. tarso (mm)	82	19.95±0,75	3.77	41	15.86±0.60	3.79
Amplit crânio (mm)	83	16.14±0.49	3.01			
Comp. crânio mais bico (mm)	83	29.42±5.87	1.99			
Comp. bico (mm)	83			41	5.79±0.08	5.87
Comp. asa (mm)	83	76.74±2.36	3.07	41	71.24±1.93	2.71
Comp. cauda (mm)	83	68.16±2.20	3.22	41	48.37±2.05	4.23
Massa (grams)	83	17.31±0.84	4.86	40	11.02±0.65	5.90
Frequência do canto (kHz)						
Freq. amp. máx	83 ^a	4.97±0.28	5.63	41	6.59±0.61	9.24
Frequência mínima	83 ^a	3.50±0.42	11.85	41	2.26±0.30	13.45
Frequência máxima	83 ^a	6.49±0.50	7.67	41	10.68±0.56	5.25

^a Valores médios dos diferentes tipos de canção de cada macho de junco

Os coeficientes de variação das medidas morfológicas foram semelhantes nos juncos e serinos e semelhantes aos que são comumente encontrados para estas espécies (Cramp & Perrins 1994; Nolan et al. 2002). Pelos valores da tabela III, a frequência dominante ficou aproximadamente a meio caminho entre a frequência mínima e a máxima para ambas as espécies (em média, 0,49 da faixa de frequências para o junco, e 0,52 para a milheirinha). Usando os valores na Tabela III e a equação de Wallschläger (1980) que relaciona a frequência de amplitude máxima do canto com a massa corporal entre as espécies de oscíneos ($\text{frequência(KHz)}=7,204*\text{massa (g}^{-0,24})$), as frequências dominantes da milheirinha e do junco foram maiores do que o previsto para a sua massa em 1,34 e 2,54 kHz, respectivamente.

A ACP para as medidas morfológicas revelou duas CP's com *eigenvalues* > 1 para o junco, e uma PC para a milheirinha (factores de carga (*factor loadings*) e *eigenvalues* na Tabela IV). A primeira CP para o junco caracteriza-se por factores de carga elevados (> 0,8) das três medidas do esqueleto, pelo que foi usada como medida do tamanho corporal. A segunda CP reflete a variação do comprimento da asa e da cauda. Os resultados que relacionam a segunda CP com a frequência das canções (não apresentados) eram idênticos aos obtidos com o tamanho do corpo. A primeira CP para a milheirinha foi a única com *eigenvalue* > 1 e caracterizou-se por factores de carga elevados (> 0,5) de todas as medidas. Foi utilizada como medida do tamanho do corpo para a milheirinha.

Tabela IV - Factores de carga (*Loading factors*) das componentes principais (CP) com eigenvalues superiores a um (i.e. coeficientes de correlação das medições com os *scores* da CP), de duas ACP's feitas às medidas métricas do junco e da milheirinha.

	Junco		Milheirinha
	Primeira CP	Segunda CP	Primeira CP
Comp. tarso	0.86	-0.05	0.56
Amplit crânio	0.84	-0.22	
Comp. crânio mais bico	0.88	-0.07	
Comp. bico			0.60
Comp. asa	0.09	0.91	0.79
Comp. cauda	0.24	0.88	0.80
Eigenvalue	2.28 (46%)	1.67 (33%)	1.95 (48%)

No junco, não havia nenhuma relação significativa entre as características de frequência do canto e o tamanho corporal ou massa (Tabela V). Os valores dos coeficientes de correlação aproximaram-se de zero, e não surgiu nenhuma tendência para uma relação negativa entre a frequência da mostra e o aumento do repertório (Tabela V). Como gravámos juncos machos em duas populações, também fizemos esta análise para cada população separadamente obtendo resultados semelhantes (não mostrados). Da mesma forma, não se verificou qualquer relação entre a frequência do canto e as medidas morfológicas na milheirinha (Tabela VI).

Comparando apenas os tipos de sílaba que eram partilhados entre os machos de junco, nenhuma das características de frequência estava relacionada com a massa corporal (todos os $F_{1,109} < 0,86$, todos os $p > 0,35$). Contrariamente ao esperado, a frequência máxima tendia a ser positivamente relacionada com o tamanho do corpo ($F_{1,109} = 4,15$, p

= 0,04, não significativo se corrigido para comparações múltiplas). A frequência de amplitude máxima e a frequência mínima não estavam relacionados com o tamanho do corpo (ambos $F_{1,109} < 0,55$, ambos $p > 0,46$).

Tabela V - Correlação média (r) e valores de significância (p) das características da frequência de canto com o tamanho e massa dos machos de junco e serino, e 95% de intervalo de confiança das médias dos coeficientes de correlação ($r_{\pm 0,95}$)

	n	Frequência de amplitude máxima	Frequência mínima	Frequência máxima	Frequência de amplitude máxima	Frequência mínima	Frequência máxima
1 tipo de sílaba por macho							
Tamanho	82	ra (p ^b) = -0.04 (0.73)	-0.02 (0.88)	-0.01 (0.92)			
Massa	83	$r_{\pm 0.95} = -0.25, 0.18$ -0.02 (0.89) -0.23, 0.20	-0.23, 0.20 0.05 (0.63) -0.16, 0.27	-0.23, 0.21 0.07 (0.55) -0.15, 0.20			
2 tipos de sílabas por macho e média							
Tamanho	72	-0.05 (0.68) -0.28, 0.18	0.01 (0.92) -0.22, 0.24	0.00 (0.98) -0.23, 0.23	... ou o valor mínimo -0.06 (0.59) -0.29, 0.17	0.02 (0.90) -0.22, 0.25	-0.02 (0.89) -0.25, 0.22
Massa	73	-0.02 (0.84) -0.25, 0.21	0.08 (0.50) -0.15, 0.30	0.03 (0.80) -0.20, 0.26	-0.02 (0.87) -0.25, 0.21	0.04 (0.75) -0.19, 0.27	-0.01 (0.95) -0.24, 0.22
3 tipos de sílabas por macho e média							
Tamanho	57	-0.07 (0.63) -0.32, 0.20	0.04 (0.77) -0.22, 0.30	0.03 (0.81) -0.23, 0.29	-0.07 (0.60) -0.33, 0.19	-0.06 (0.65) -0.32, 0.20	-0.07 (0.59) -0.33, 0.19
Massa	58	-0.03 (0.78) -0.29, 0.22	0.10 (0.45) -0.16, 0.35	0.06 (0.64) -0.20, 0.32	-0.05 (0.70) -0.31, 0.21	-0.11 (0.42) -0.36, 0.15	0.01 (0.95) -0.25, 0.27
4 tipos de sílabas por macho e média							
Tamanho	42	-0.05 (0.74) -0.35, 0.26	0.04 (0.82) -0.27, 0.34	0.10 (0.55) -0.22, 0.39	0.04 (0.80) -0.27, 0.34	-0.10 (0.54) -0.39, 0.21	-0.07 (0.66) -0.37, 0.24
Massa	42	0.07 (0.68) -0.25, 0.36	0.03 (0.87) -0.30, 0.31	0.23 (0.14) -0.09, 0.49	0.07 (0.64) -0.24, 0.37	-0.29 (0.07) -0.54, 0.02	0.08 (0.59) -0.22, 0.38
5 tipos de sílabas por macho e média							
Tamanho	23	0.08 (0.72) -0.34, 0.48	0.07 (0.75) -0.35, 0.47	0.00 (1.00) -0.41, 0.41	-0.09 (0.69) -0.48, 0.34	-0.10 (0.67) -0.49, 0.33	-0.15 (0.48) -0.53, 0.28
Massa	23	0.15 (0.48) -0.28, 0.53	0.15 (0.50) -0.25, 0.55	0.14 (0.53) -0.29, 0.52	0.13 (0.54) -0.29, 0.52	-0.22 (0.31) -0.58, 0.21	0.12 (0.60) -0.31, 0.50

Discussão

Nenhum dos valores de frequência das canções de junco ou milheirinha estava relacionado com o tamanho do corpo e não havia nenhuma tendência para amostragens de repertório maiores melhorarem o conteúdo do sinal da frequência em relação ao tamanho do corpo.

Comparando a frequência das sílaba partilhadas de juncos, também não se verificou qualquer relação negativa com o tamanho do corpo. De uma maneira geral, não encontramos nada óbvio capaz de permitir aos receptores de junco ou serino avaliar o tamanho do corpo dos machos a partir da frequência das suas canções.

Uma explicação provável é que as diferenças no tamanho entre indivíduos da mesma espécie são pequenas demais para influenciar consideravelmente a frequência do canto. Por exemplo, uma diminuição de 1 SD na massa em juncos e serinos (Tabela III) poderia prever um aumento na frequência de apenas 44 e 60 Hz, respectivamente, utilizando a equação de Wallschläger (1980) para o canto de oscineos. Nas frequências previstas, isto corresponde a 1,20 e 1,47 Webers (desvio na frequência * 100 / frequência de base), que são apenas cerca de duas a três vezes o limite auditivo tipicamente descrito para as aves (por exemplo, Kuhn et al. 1980, Dent et al 2000). Usando a equação teórica de Fletcher (2004) para a escala óptima de tamanho corporal em vertebrados, também são obtidos os mesmos valores baixos (frequência = $B * \text{massa}^{-0,4}$, em que B é uma constante calibrada para cada espécie): 100 Hz e 2 Webers para o junco, e 162 Hz e 2,46 Webers para a milheirinha. Considerando estas pequenas mudanças previsíveis na frequência, é surpreendente que as associações de frequência com o tamanho do corpo tenham sido relatados tantas vezes para uma grande variedade de taxa, incluindo as aves sub-oscíneos. Note-se que os coeficientes de variação do

tamanho corporal nos sub-oscíneos estudados são semelhantes aos das milheirinhas e juncos (por exemplo, Barbaud et al. 2000; Mager et al. 2007), e como a relação entre frequência e tamanho é inversamente exponencial, os coeficientes de variação semelhantes prevêm diferenças ainda mais pequenas na frequência absoluta para animais de maior dimensão.

Pode ser que a diversidade das sílabas que compõe o repertório dos indivíduos (tendo cada tipo de sílaba as suas propriedades de frequência diferentes) esconda uma possível relação entre a frequência e o tamanho de corpo ou massa. Se a falta de uma relação se deve à diversidade silábica, podemos esperar que a média de todo o repertório, ou o valor mais baixo de frequência, iria decompor as idiosincrasias de cada tipo de sílaba, e mostraria uma relação entre frequência e tamanho do corpo. Este não foi o caso, mesmo na situação extrema da milheirinha em que as canções contêm normalmente mais de 20 tipos diferentes de sílabas. Portanto, a diversidade silábica nestas duas espécies não parece ser, por si só, responsável pela falta de relação entre frequência e tamanho do corpo.

Table VI: Correlações (r) e valores de significância (p) das características de frequência do canto com o tamanho e a massa de serinos macho, e 95% do intervalo de confiança dos coeficientes de correlação. ($r \pm 0.95$)

	n	Frequência de amplitude máxima	Frequência mínima	Frequência máxima
Tamanho	41	$r(p) = 0.01 (0.93)$	0.13 (0.42)	0.07 (0.67)
		$r \pm 0.95 = 0.32, 0.29$	-0.19, 0.42	-0.25, 0.37
Massa	40	0.18 (0.26)	-0.20 (0.22)	-0.15 (0.35)
		-0.14, 0.47	-0.48, 0.12	-0.44, 0.17

Aspectos únicos da fisiologia vocal dos oscíneos podem interferir numa possível relação entre o tamanho do corpo ou a massa e a frequência. Como mencionado na introdução, os oscíneos são capazes de usar uma grande variedade de frequências. A frequência fundamental é controlada principalmente pela contração de músculos siringeais especializados, e cada lado da siringe pode especializar-se em produzir sons de baixa ou de alta frequência (Suthers, 1997). Isto contrasta com a maior limitação para modulação de frequências em espécies sub-oscíneas, em que a frequência parece ser determinada pela variação da pressão nos sacos de ar (Beckers et al. 2003). A capacidade dos oscíneos para controlar a frequência numa ampla faixa de frequências pode, até certo ponto, fazer com que a frequência do canto dependa mais do modelo aprendido do que das limitações vocais das aves.

No junco e milheirinha, a frequência de amplitude máxima está perto do ponto médio da respectiva variação de frequências, enquanto em algumas espécies de oscíneos a frequência de amplitude máxima está localizada a cerca de um quarto abaixo da variação de frequência, onde se pensa que as membranas siríngicas e músculos estão relativamente relaxados e, portanto, deve ser mais fácil cantar (Lambrechts, 1996). Além disso, juncos e milheirinhas cantam com frequências consideravelmente mais altas do que é típico para oscíneos do seu tamanho. A previsão mais clara da relação entre frequência e tamanho do corpo diz respeito à frequência mínima, porque é a mais difícil de alterar, dado o tamanho dos órgãos vocais (Bradbury e Vehrencamp 1998). Uma vez que estas duas espécies não realçam as suas frequências mais baixas, o tamanho do corpo pode não ser o factor limitante mais importante para o perfil de frequências das suas canções. Isso poderia ajudar a explicar o resultado obtido para diferentes *Pirrula*, em que existe uma correlação negativa entre a frequência do canto e o tamanho corporal (Schubert 1976). Ao contrário dos juncos e milheirinhas, os *Pirrula*

parecem enfatizar as suas frequências mais baixas: a frequência de amplitude máxima é na parte inferior da sua faixa de frequências e é de aproximadamente 1 kHz abaixo do esperado para a sua massa (observações pessoais com base na massa média dos machos em Cramp e Perrins 1994, a gravação do canto em Perrins 1998 e a equação de Wallschläger (1980). Além disso, os *Pirrula* estudados eram de subespécies diferentes que diferem consideravelmente de tamanho.

A falta de uma relação entre frequência e tamanho corporal ajuda a compreender a preferência das fêmeas por cantos com frequências mais altas que são característicos dos serinos e doutras espécies de oscíneos (Dabelsteen e Pedersen 1993, Ratcliffe e Otter 1996, Cardoso et al. 2007). Uma explicação para esta suposta preferência é que a maior frequência assinala menor tamanho, o que pode conferir maior agilidade de vôo, sendo uma característica preferida nalgumas espécies (por exemplo, Grønstøl 1996, Blomqvist et al. 1997). Podemos agora excluir esta possibilidade para as milheirinhas. Uma explicação que permanece viável, por exemplo, é que cantar com frequências altas é dispendioso, porque requer maior contração dos músculos (Suthers et al. 1999) Assim, nalgumas espécies, os machos cantam menos consistentemente nas frequências mais altas do que nas mais baixas (Lambrechts 1997, Christie et al. 2004). A falta de uma relação entre frequência e tamanho corporal também implica que as preferências pelo tamanho do corpo (seja pequeno ou grande) não implicam a preferências pela frequência do canto. Por exemplo, nos juncos machos, o maior tamanho (medido pelo comprimento da asa) confere-lhes uma vantagem reprodutiva (McGlothlin et al. 2005), mas, com base nos nossos resultados, isto não implica que as fêmeas devam preferir cantos de baixa frequência. Em vez disso, isto pode resultar de uma avaliação visual direta do tamanho ou outros comportamentos correlacionado com o tamanho do corpo.

Não podemos excluir a possibilidade de que existam informações nas características de frequência do canto sobre o tamanho do corpo, para além das que medimos. Por exemplo, em mamíferos, a frequência das vocalizações é geralmente um indicador pobre do tamanho do corpo (revisto em Searcy e Nowicki 2005; ver para exemplo Pfefferle e Fischer 2006), enquanto a dispersão formante depende do tamanho do trato vocal e, portanto, está mais estreitamente relacionado com o tamanho do corpo (por exemplo Fitch 1997, Sanvito et al. 2007). Formantes são picos de amplitude de certas frequências devido a propriedades de ressonância do trato vocal, e são independentes da frequência na origem do som (Bradbury e Vehrencamp 1998). Para alguns não-passeriformes, é conhecida a influência do tamanho e a forma do trato vocal nos perfis dos formantes (Suthers 1994), e as diferenças na dispersão dos formantes são perceptíveis (Fitch e Kelley, 2000). Portanto, os formantes podem fornecer informações sobre o tamanho do corpo das aves. A correlação negativa entre *rattles* de andorinhas e a massa corporal (Galeotti et al. 1997) pode ser um exemplo, porque os *rattles* são compostos por cliques de banda larga, não-harmónicos e, portanto, a sua frequência de amplitude máxima deve depender da localização dos formantes em vez da periodicidade na fonte de som. Na verdade, dimorfismo sexual no prolongamento da traqueia é comum em aves (principalmente sub-oscíneos), e pensa-se ter evoluído para permitir aos machos vocalizar como se fossem maiores (Fitch 1999). No entanto, ao contrário dos *rattles* das andorinhas, as canções de juncos e serinos são principalmente tonais, tendo poucos sons de banda larga ásperos, o que faz com que os formantes possam ser percebido ou medidos. Também a pureza tonal em oscíneos é conseguida pela modificação activa da forma do trato vocal, de modo a que a frequência fundamental é enfatizada, enquanto as outras são filtradas (Nowicki 1987, Riede et al. 2006) e assim as propriedades de ressonância do trato vocal mudam continuamente durante o canto. Por

estas razões a informação do tamanho corporal pela dispersão de formante nas canções de junco ou serino é muito improvável. É, no entanto, um mecanismo que merece mais investigação em espécies com cantos menos ásperos e tonais, ou noutros tipos de vocalizações (vocalizações de ameaça, por exemplo, são comumente ásperas, Morton 1977).

Agradecimentos

Agradecemos a, Russell Lande e Hopi Hoekstra pelo suporte logístico na UCSD, e revisores deste manuscrito pelos muitos comentários úteis. A captura e anilhagem de aves foi feita sob a permissão Federal de anilhagem número 20261, do Departamento dos EUA do Interior (juncos), e permissão anual do Instituto da Conservação para a Natureza (milheirinha). Este trabalho foi financiado pela bolsa de pós-doutorado SFRH / BPD / 21509 / 2005 da Fundação para a Ciência e Tecnologia (FCT) para GCC, uma concessão da Secretaria Regional de Educação e Cultura da Região Autónoma da Madeira a ATM, uma bolsa de pós-graduação da National Science para JWA, bolsa POCI / BIA-BDE / 58301 / 2004 da FCT para PGM, e programa de apoio à investigação da Indiana University.

Referências

- Amorim MCP, Hawkings AD. 2005. Ontogeny of acoustic and feeding behaviour in the Grey Gurnard *Eutrigla gurnardus*. *Ethology*. 111:255-269.
- Andersson M. 1994. *Sexual Selection*. Princeton Univ. Press, Princeton. Appleby, B. M.

- & Redpath, S. M. 1997: Indicators of male quality in the hoots of Tawny Owls (*Strix aluco*). *J Raptor Res.* 31:65—70.
- Appleby BM, Redpath SM. 1997. Indicators of male quality in the hoots of tawny owls (*Strix aluco*). *J Raptor Res.* 31:65–70.
- Badyaev AV, Leaf ES. 1997. Habitat associations of song characteristics in *Phylloscopus* and *Hippolais* warblers. *Auk.* 114:40-46.
- Barbaud C, Mariani A, Jouventin P. 2000. Variation in call properties of the snow petrel, *Pagodroma nivea*, in relation to sex and body size. *Aust J Zool.* 48: 421-430.
- Beckers GJL, Suthers RA, ten Cate C. 2003. Mechanisms of frequency and amplitude modulation in ring dove song. *J Exp Biol.* 206:1833-1843.
- Bergmann HH. 1976. Konstitutionsbedingte Merkmale in Gesängen und Rufen europäischer Grasmücken (Gattung *Sylvia*). *Z Tierpsychol.* 42:315-329.
- Blomqvist D, Johansson OC, Unger U, Larsson M, Flodin LA. 1997. Male aerial display and reversed sexual size dimorphism in the dunlin. *Anim Behav.* 54:1291-1299.
- Bowman RI. 1979: Adaptive morphology of song dialects in Darwin's finches. *J. Ornithol.* 12:353-389.
- Bradbury JW, Vehrencamp SL. 1998. *Principles of Animal Communication.* Sinauer Associates, Sunderland.
- Brown WD, Wideman J, Andrade MCB, Mason AC, Gwynne DT. 1996. Female choice for an indicator of male size in the song of the black-horned tree cricket *Oecanthus nigricornis* (Orthoptera: Gryllidae: Oecanthinae). *Evolution.* 50:2400-

2411.

Byers BE. 2007. Extrapair paternity in chestnut-sided warblers is correlated with consistent vocal performance. *Behav Ecol.* 18:130-136.

Cardoso GC, Mota PG. 2007. Song diversification and complexity in canaries and seedeaters (*Serinus* spp.). *Biol J Linn Soc.* 92:183-194.

Cardoso GC, Mota PG, Depraz V. 2007. Female and male serins (*Serinus serinus*) respond differently to derived song traits. *Behav Ecol Sociobiol.* 61:1425-1436.

Christie PJ, Mennill DJ, Ratcliffe LM. 2004. Pitch shifts and song structure indicate male quality in G. C. Cardoso et al. *Song Frequency and Body Size in Oscines Ethology* 114 (2008) 1084–1093 a 2008 The Authors Journal compilation a 2008 Blackwell Verlag, Berlin 1091 the dawn chorus of black-capped chickadees. *Behav Ecol Sociobiol.* 55:341-348.

Cramp S, Perrins CM. 1994. *The birds of the Western Palearctic, Vol. VIII.* Oxford Univ. Press, Oxford.

Dabelsteen T, Pedersen SB. 1993. Song-based discrimination and behaviour assessment by female blackbirds, *Turdus merula*. *Anim Behav.* 45:759- 771.

Davies NB, Halliday TR. 1978. Deep croaks and fighting assessment in toads *Bufo bufo*. *Nature.* 274:683-685.

Dent ML, Dooling RJ, Pierce AS. 2000. Frequency discrimination in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*): effects of tone duration and tonal context. *J Acoust Soc Am.* 107:2657-2664.

Fitch WT. 1997. Vocal tract length and formant frequency dispersion correlate with

body size in rhesus macaques. *J Acoust Soc Am.* 102:1213-1222.

Fitch WT. 1999. Acoustic exaggeration of size in birds via tracheal elongation: comparative and theoretical analyses. *J Zool.* 248:31-48.

Fitch WT, Kelley JP. 2000. Perception of vocal tract resonances by whooping cranes *Grus americana*. *Ethology.* 106:559-574.

Fletcher NH. 2004. A simple frequency-scaling rule for animal communication. *J Acoust Soc Am.* 115:2334-2338.

Galeotti P, Saino N, Sacchi R, Møller AP. 1997. Song correlates with social context, testosterone and body condition in male barn swallows. *Anim Behav.* 53:678-700.

Grønstøl, GB. 1996. Aerobic components in the songflight display of male lapwings *Vanellus vanellus* as cues in female choice. *Ardea.* 84:45-55.

Guillotin M, Jouventin P. 1980. Le pétrel des neiges a` Pointe Géologie. *Le Gerfaut.* 70:51-72.

Hanford P, Loughheed S. 1991. Variation in duration and frequency characters in the song of the rufous-collared sparrow, *Zonotrichia capensis*, with respect to habitat, trill dialects and body size. *Condor.* 93:644-658.

Hardouin LA, Reby D, Bavoux C, Burnelau G, Bretagnolle V. 2007. Communication of male quality in owl hoots. *Am Nat.* 169:552-562.

Hibbitts TJ, Whiting MJ, Stuart-Fox DM. 2007. Shouting the odds: vocalization signals status in a lizard. *Behav Ecol Sociobiol.* 61:1169-1176.

Irwin DE, Thimgan MP, Irwin JH. 2008. Call divergence is correlated with geographic and genetic distance in greenish warblers (*Phylloscopus rochiloides*): a strong role

- for stochasticity in signal evolution? *J Evol Biol.* 21:435-448.
- de Jong K, Bouton N, Slabbekoorn H. 2007. Azorean rock-pool blennies produce size-dependent calls in a courtship context. *Anim Behav.* 74:1285-1292.
- Kuhn A, Leppelsack HJ, Schwartzkopff J. 1980. Measurement of frequency discrimination in the starling (*Sturnus vulgaris*) by conditioning of heart rate. *Naturwissenschaften* 67:102–103.
- Ladich F. 1998. Sound characteristics and outcome of contests in male croaking gouramis (Teleostei). *Ethology.* 104:517-529.
- Lambrechts M M. 1996. Organisation of birdsong and constraints on performance. In: *Ecology and Evolution of Acoustic Communication in Birds* (Kroodsma, D. E. & Miller, E. H., eds). Cornell Univ. Press, Ithaca, pp. 305—319.
- Lambrechts MM. 1997. Song frequency plasticity and composition of phrase versions in great tits *Parus major*. *Ardea.* 85:99-109.
- Logue DM, Droessler EE, Roscoe DW, Vokey JR, Rendall D, Kunimoto RM. 2007. Sexually antithetical song structure in a duet singing wren. *Behaviour.* 144:331-350.
- Madsen V, Balsby TSJ, Dabelsteen T, Osorno JL. 2004. Bimodal signalling of a sexually selected trait: gular pouch drumming in the magnificent frigatebird. *Condor.* 106:156-160.
- Mager J. N. III, Walcott C, Piper WH. 2007. Male common loons, *Gavia immer*, communicate body mass and condition through dominant frequencies of territorial yodels. *Anim Behav.* 73:683-690.

- McGlothlin JW, Parker PG, Nolan VJr, Ketterson ED. 2005. Correlational selection leads to genetic integration of body size and an attractive plumage trait in dark-eyed juncos. *Evolution*. 59:658-671.
- Miyasaki M, Waas JR. 2003. Acoustic properties of male advertisement and their impact on female responsiveness in little penguins *Eudyptula minor*. *J Avian Biol*. 43:229-232.
- Morton ES. 1977. On the occurrence and significance of motivation-structural rules in some bird and mammal sounds. *Am Nat* 111:855-869.
- Mota PG, Cardoso GC. 2001. Song organization and patterns of variation in the serin (*Serinus serinus*). *Acta Ethol*. 3:141-150.
- Newman MM, Yeh PJ, Price TD. 2008. Song variation in a recently founded population of the Darkeyed Junco (*Junco hyemalis*). *Ethology*. 114:164-173.
- Nolan VJr, Ketterson ED, Cristol DA, Rogers CM, Clotfelte, ED, Titus RC, Schoech, SJ, Snajdr E. 2002. Dark-eyed Junco (*Junco hyemalis*). In: *The Birds of North America*, No. 716 (Poole, A. & Gill, F., eds). The Birds of North America, Inc., Philadelphia, PA, pp. 1-44.
- Nowicki S. 1987. Vocal tract resonances in oscine bird sound production: evidence from birdsongs in a helium atmosphere. *Nature*. 325:53-55.
- Pasteau M, Nagle L, Kreutzer M. 2007. Influences of learning and predispositions on frequency level preferences on female canaries (*Serinus canaria*). *Behaviour*. 144:1103-1118.
- Perrins CM. (ed.) 1998. *The Complete Birds of the Western Palearctic – CD-ROM*.

Oxford Univ. Press, Oxford.

Pfefferle D, Fischer J. 2006: Sounds and size: identification of acoustic variables that reflect body size in hamadryas baboons, *Papio hamadryas*. *Anim Behav.* 72:43-51.

Ratcliffe L, Otter K. 1996. Sex differences in song recognition. In: *Ecology and Evolution of Acoustic Communication in Birds* (Kroodsma, D. E. & Miller, E. H., eds). Cornell Univ. Press, Ithaca, pp. 339-355.

Riede T, Suthers RA, Fletcher NH, Blevins WE. 2006. Songbirds tune their vocal tract to the fundamental frequency of their song. *Proc Natl Acad Sci U.S.A.* 103: 5543-5548.

Ryan MJ, Brenowitz EA. 1985. The role of body size, phylogeny, and ambient noise in the evolution of bird song. *Am Nat.* 126:87-100.

Sanvito S, Galimberti F, Miller EH. 2007. Vocal signaling of male southern elephant seals is honest but imprecise. *Anim Behav.* 73:287-299.

Schubert M. 1976. Uber die variabilitat von lockrufen des gimpels, *Pyrrhula pyrrhula*. *Ardea.* 64:61-71.

Searcy WA, Nowicki S. 2005: *The Evolution of Animal Communication*. Princeton Univ. Press, Princeton.

Seddon N, Amos W, Mulder RA, Tobias JA. 2004. Male heterozygosity predicts territory size, song structure and reproductive success in a cooperatively breeding bird. *Proc R Soc Lond B.* 271:1823-1829.

Shy E. 1983. The relation of geographical variation in song to habitat characteristics and body size in North American tanagers (*Thraupinae: Piranga*). *Behav Ecol*

Sociobiol. 12:71-76.

Suthers RA. 1994. Variable asymmetry and resonance in the avian vocal tract: a structural basis for individually distinct vocalizations. *J Comp Physiol.* 175:457-466.

Suthers RA. 1997. Peripheral control and lateralization of birdsong. *J Neurobiol.* 33:632-652.

Suthers RA, Goller F, Pytte C. 1999. The neuromuscular control of bird song. *Philos Trans R Soc Lond B.* 354:927-939.

Suthers RA, Vallet E, Tanvez A, Kreutzer M. 2004. Bilateral song production in domestic canaries. *J Neurobiol.* 60:381-393.

Wallschlagel D. 1980. Correlation of song frequency and body weight in passerine birds. *Experientia.*36:412.

Williams L, MacRoberts MH. 1977. Individual variation in the songs of dark-eyed juncos. *Condor.* 79:106-112.

Yeh PJ, Price TD. 2004. Adaptive phenotypic plasticity and the successful colonization of a novel environment. *Am Nat.* 164:531-542.

CAPÍTULO 5

Resposta vocal dos machos da milheirinha, *Serinus*

***serinus*, a desafios com playbacks interactivos**

The most important thing in communication is to hear what isn't being said.

Peter Drucker

Resumo

A sobreposição e alternância do canto das aves é um dos comportamentos de interação entre indivíduos que tem vindo a ser estudada ao longo das últimas décadas e que, mais recentemente, gerou alguma controvérsia sobre o seu valor comunicacional. Têm sido propostas várias hipóteses para explicar a função deste comportamento vocal, sendo consensual a sinalização de qualidade e/ou motivação. Testámos a resposta de machos de milheirinha (*Serinus serinus*) a gravações interactivas de conspecíficos desconhecidos, alternadas e sobrepostas, procurando avaliar como respondem as aves a desafios vocais provocados, como a sobreposição do seu próprio canto. Resultados de experiências anteriores, revelaram que os machos desta espécie reagem a canções com intervalos inter-silábicos mais curtos mas não a variações de frequência. Neste trabalho, analisámos as diferenças gerais encontradas nas respostas entre tratamentos experimentais, que se registaram ao nível da duração e intervalo entre canções e sílabas, evidenciando a alteração de determinados parâmetros do canto quando os indivíduos passam de um padrão de alternância para um de sobreposição e vice-versa. Verificou-se uma diminuição da duração das canções dos machos quando sobrepostas e alternadas pelo playback. Por outro lado, a diminuição do intervalo inter-silábico durante a alternância do playback poderá indicar um nível de agressividade maior. Os resultados sugerem que o canto em sobreposição e alternância pode ser considerado uma ameaça mas a reacção dos machos é distinta, sendo mais agressiva aos estímulos em sobreposição.

Introdução

Durante a época reprodutiva das aves canoras, os machos cantam muitas vezes em simultâneo, um comportamento vocal que pode alterar o comportamento dos indivíduos envolvidos (Naguib 1999, Osiejuk 2004). Uma vez que existem limitações na produção do canto relacionadas com a condição física dos machos (Podos et al. 2004, Searcy e Nowicki 2005), este comportamento deve fornecer algum tipo de informação aos machos que participam, a outros machos que estão simplesmente a assistir, e às fêmeas (McGregor e Dabelsteen 1996, Mcgregor e Peak 2000).

Um dos métodos que permite analisar a função do canto das aves é o uso de playbacks (McGregor 2000). O uso de playbacks interactivos, especificamente, é um método que simula o canto de um ou mais indivíduos e pretende estimular uma resposta direccionada semelhante àquela que ocorre naturalmente, quando as aves cantam em simultâneo. Hall (2004) reduziu para 4 as funções dos duetos: evitar invasão de recursos (espaço e par), defesa colaborativa de um recurso (joint territory defense) ou para guarda-do-par.

A resposta dos indivíduos que participam em duetos vocais é muito variada, incluindo alterações no padrão temporal da produção do canto. Por exemplo, o trigueirão (*Miliaria calandra*), responde com canções mais curtas a estímulos de playback sobrepostos (Osiejuk et al. 2007). O mesmo acontece com Chapim Real (*Parus major*), que canta canções mais curtas durante a sobreposição do canto (Dabelsteen et al 1996). Existem inúmeras evidências da partilha de repertório entre populações vizinhas, que respondem mais agressivamente ao canto de indivíduos conspecíficos desconhecidos (Skierczynski e Osiejuk 2010, Briefer et al 2009, Botero et al 2007). Este comportamento, conhecido como o efeito “dear enemy” (Fisher 1954) prevê uma

redução de comportamentos agressivos entre vizinhos, indivíduos com territórios contíguos, o que revela a capacidade de reconhecer diferenças individuais existentes no canto (Godard 1991, Godard e Wiley 1995) e sustenta uma das principais funções do canto que é o reconhecimento vocal (Gill e Lanyon 1964, Grant 1984, Price 1999, Searcy et al. 1995). Também a resposta a estímulos vocais provenientes de diferentes distâncias ou que simulem esta situação, através da manipulação de canções, permite avaliar a capacidade dos indivíduos de calcular a distância a que se encontra o estímulo (Fotheringham et al. 1997, Mathevon e Aubin 1997, Naguib 1995). Em algumas espécies os indivíduos interagem através da correspondência de canções/repertório, verificando-se maior agressividade quando a ave persiste neste comportamento (Burt et al. 2001, Krebs et al. 1981).

As experiências de playback interactivo têm sido muito importantes na determinação das funções do canto, em particular a sobreposição e alternância das canções, através da análise das respostas dos indivíduos testados. Alguns dos resultados obtidos através do uso deste método mostram que o canto sobreposto, i. é, quando um indivíduo começa a cantar antes de outro indivíduo acabar, é mais importante em duetos em que há proximidade física e uma agressividade latente (Hyman 2003, Dabelsteen et al 1997). De uma maneira geral, a sobreposição do canto dos machos pode estar associada a um sinal de ameaça e escalada na competição, à proximidade de um elevado número de indivíduos ou a um factor de protecção contra predadores (revisto em Naguib e Mennill 2010). Mais recentemente, Searcy e Beecher (2009, 2011) questionaram o valor deste sinal, apresentando argumentos para a sua possível casualidade.

Por outro lado, a alternância de canções pode ser comparável ao efeito “dear enemy”, diminuindo a possibilidade de interações agressivas (Fisher 1954, Sprau et al. 2012, Temeles 1994) ou evitar interferências do sinal (Brumm 2006, Popp et al. 1985), sendo

mais comum entre indivíduos que se encontram a uma distância maior (Brindley 1991, revisto em Naguib e Wiley 2001).

Neste trabalho explorámos as variações existentes no canto dos machos de milheirinha, em resposta à sobreposição e alternância das canções. Através do uso de playbacks interactivos de machos conspecíficos, simulámos machos intrusos a cantar ao mesmo tempo que os machos focais (sobreposição) e nos silêncios entre canções (alternância). O nosso objectivo era determinar a existência de variações na estrutura das canções produzidas pelos machos quando eram estimulados pelos playbacks e se essas diferenças dependiam da forma como os estímulos eram apresentados, simulando diferentes tipos de interacção. Analisámos o comportamento vocal através da quantificação de padrões temporais e estruturais. A milheirinha não defende território, havendo no entanto comportamento de guarda-do-par (Mota 1995). É uma espécie monogâmica e durante a época reprodutiva podem ouvir-se os machos a cantar em duetos, perto dos ninhos ou em zonas de alimentação. O canto da milheirinha é constituído por um repertório de cerca de 40-80 sílabas (Mota e Cardoso 2001 e Cap. 3), que cantam em canções com uma duração média de 3s e intervalos entre canções superiores a 1s. De acordo com os resultados de Cardoso, Mota e Depraz (2007), os machos alteram o comportamento quando são estimulados por canções mais rápidas, com uma taxa silábica superior, afastando-se. Contudo, não se verificou qualquer resposta vocal naquelas condições experimentais. A nossa previsão é a de que os machos responderão aos estímulos vocais apresentados em ambiente natural, alterando o seu comportamento vocal. Se a sobreposição e alternância do canto forem consideradas pelas aves sinais com valores diferentes, espera-se que ocorram variações temporais na resposta aos dois tipos de estímulos apresentados.

Material e Métodos

Área de estudo e material utilizado

Este trabalho foi realizado durante as épocas reprodutivas de 2006 e 2007, de Fevereiro a Maio, em Arzila (descrição detalhada no Cap.2) . Todas as aves testadas estavam anilhadas (descrição detalhada no Cap.2), sendo possível a sua identificação individual com recurso a binóculos (Nikon Action, 8x40) e telescópio (Swarovsky AT 80 HD 20x-60x).

Foram recolhidos registos sonoros quase diariamente entre as 6:00 e as 12:00 horas. Para tal foi utilizado um microfone ultra direccional Sennheiser MKH70 com uma protecção contra o vento, gravadores digitais Marantz PMD670 e PMD660. Para as experiências de playback, além do material já referido, foi necessário um computador portátil (City Desk), ao qual se ligou uma coluna de som (Sony SRS-A57) com alimentador (pilha de 9V), dentro de uma caixa de direccionamento do som (ver Cap. 2).

O software utilizado para reproduzir os estímulos interactivos foi o Syrinx (real time spectrographic recording, analysis and playback of sounds, desenvolvido por John Burt, University de Washington, Seattle, <http://www.syrinxpc.com>), muito eficaz neste tipo de experiências, uma vez que reproduz as canções pretendidas com um simples toque numa tecla do computador, com um atraso mínimo, que também depende da rapidez do experimentador. Todas as gravações foram digitalizadas e analisadas com o Avisoft-SAS Lab.

Desenho experimental do playback

Preparámos os estímulos a partir de gravações de machos recolhidas em 2006 e anos anteriores, a mais de 30 Km da área onde foram realizadas as experiências de playback. Com este procedimento, é eliminada a probabilidade do canto ser familiar aos machos testados e de se verificar o efeito “dear enemy” (Fisher, 1954). Foram escolhidas canções com uma boa qualidade de gravação, numeradas e usadas apenas uma vez, para impedir efeitos de pseudo-replicação (McGregor 2000, Hurlbert 1984). Utilizámos canções completas, com uma duração média de 1.72 ± 0.25 s em sobreposição e 1.67 ± 0.22 s em alternância. Os estímulos foram normalizados para valores padrão correspondentes aos utilizados em todas as análises efectuadas neste trabalho (ver métodos do Cap. 2).

Gravámos 17 machos adultos, com 2 anos ou mais, perto do ninho, onde habitualmente cantam durante a época reprodutiva. Todos os indivíduos testados estavam acasalados e foram gravados a uma distância média inferior a 10m. As gravações foram efectuadas quando nenhum outro macho se encontrava a cantar próximo do macho focal. A recolha de gravações foi realizada em três situações experimentais distintas: sem a utilização de qualquer estímulo (controlo - C), usando uma canção em alternância (A) e outra em sobreposição (O) (figura 5.2), com um intervalo mínimo de uma hora, entre estímulos.

Todos os machos foram gravados sem qualquer estímulo, antes da apresentação dos playbacks (à excepção das aves 13 e 15). Os playbacks foram realizados com a apresentação de estímulos diferentes para cada macho, bem como para cada tipo de playback. Em alternância o estímulo foi reproduzido 0.5 ± 0.04 s após o macho terminar cada canção e em sobreposição 0.6 ± 0.05 s após o indivíduo focal começar a cantar. Cada teste tinha início quando a ave começava a cantar e terminava quando esta parava ou ao

fim de 20 min. A coluna era pendurada perto do ninho, a cerca de 2 m de altura e o observador que activava o playback posicionava-se a uma distância sempre superior a 5 m. A ordem usada para apresentar foi aleatorizada, tendo 8 (47.1%) indivíduos sido primeiro testados com o estímulo em alternância seguido da sobreposição e 9 (52.9%) primeiro testados com a canção em sobreposição seguido do estímulo em alternância.

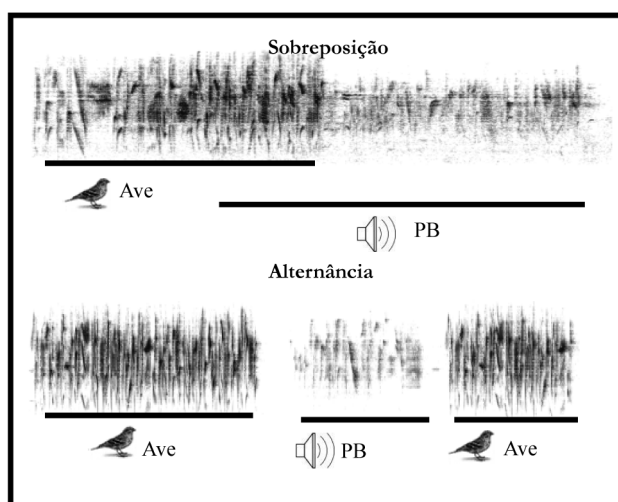


Figura 5.1 - Representação esquemática dos testes de playback (playback) interativo, com indicação da apresentação do estímulo relativamente ao canto do animal focal.

Análise dos comportamentos vocais

Para determinar a influência dos estímulos de playback, analisámos o canto com o programa Avsioft, medindo algumas características das canções e sílabas. Nesta análise, só foram consideradas as experiências em que as aves cantaram um mínimo de 15 canções. As gravações foram efectuadas com uma frequências de amostragem 24000 e/ou 44100 Hz. Posteriormente, convertimos a frequência de todas as gravações para 24000 Hz e os parâmetros para produzir os espectrogramas foram janela Hamming, FFT

= 256, frame = 100% e 87,5% de sobreposição. Estas configurações resultaram numa largura de banda de 122Hz, resolução de frequência de 94 Hz e resolução de tempo de 1,3 ms. Sempre que foi necessário usámos filtro de 2 kHz passa-alto, para eliminar ruídos de baixa frequência.

As variáveis medidas na análise das canções, para as três situações consideradas, foram: duração das canções, duração dos intervalos, frequência mínima, frequência máxima, frequência de amplitude máxima, número de vezes que a ave mudava de canção e a taxa de canto ($\text{Taxa de Canto} = \text{n}^\circ \text{ de canções/min}$). Para além das variáveis referidas, medimos também o tempo de latência ($\text{Latência} = \text{intervalo de tempo entre o início do playback e início da canção seguinte do macho focal}$) e a duração da sobreposição das canções do macho focal ao estímulo aplicado (Sobreposição). Para determinar a variação ao nível das sílabas, escolhemos, para cada indivíduo, cinco canções, nas quais foram medidas a duração das sílabas e dos intervalos, a frequência mínima, a frequência máxima, a frequência de amplitude máxima e a taxa silábica ($\text{TaxaSilábica} = \text{n}^\circ \text{ de sílabas/min}$).

O tamanho da amostra varia entre os testes porque nem sempre foi possível determinar todas as variáveis para todos os indivíduos. Os valores médios resultantes da análise das canções gravadas em condições naturais na ausência de outros machos, e durante as experiências de playback, estão representados na tabela VII.

Tab.VII – Médias \pm EP das variáveis medidas na análise das canções e sílabas, para as três situações consideradas (C – control; O – Sobreposição; A – alternância).

CANÇÕES	C	O	A
Duração Canção (s)	3,228 \pm 0,20	2,654 \pm 0,24	2,637 \pm 0,24
Duração Intervalo (s)	2,827762 \pm 0,19	3,037 \pm 0,21	3,761 \pm 0,33
Frequência Amplitude Máxima (Hz)	6750,644 \pm 97,71	6849,204 \pm 106,11	6829,704 \pm 102,83
Frequência Mínima (Hz)	2834,261 \pm 162,44	3049,181 \pm 299,21	3230,265 \pm 178,21
Frequência Máxima (Hz)	9736,175 \pm 98,17	9707,713 \pm 70,89	9693,919 \pm 73,12
Mudança Canção	1,176 \pm 0,42	0,882352941 \pm 0,47	2,00 \pm 0,62
Taxa de canto (n ^o canções/min)	10,394 \pm 0,38	10,780 \pm 0,49	9,717 \pm 0,57
Latência (s)	-	4,911 \pm 0,05	3,718 \pm 0,41
Sobreposição (s)	-	1,131 \pm 0,11	0,209 \pm 0,08
SÍLABAS			
Duração Sílabas (s)	0,121 \pm 0,003	0,122 \pm 0,003	0,122 \pm 0,002
Duração Intervalos Sílabas (s)	0,0240 \pm 0,0006	0,0250 \pm 0,0005	0,0230 \pm 0,0007
Frequência Amplitude Máxima Sílabas (Hz)	6863,372 \pm 69,41	6882,666 \pm 63,36	6894,968 \pm 47,92
Frequência Mínima (Hz)	3464,662 \pm 157,11	3562,87 \pm 176,07	3671,386 \pm 151,68
Frequência Máxima Sílabas (Hz)	9261,387 \pm 61,39	9287,93 \pm 86,62	9335,609 \pm 67,30
Taxa Sílabas (n ^o sílabas/min)	401,120 \pm 19,97	402,100 \pm 19,74	396,77 \pm 15,77

Análise estatística

Todos os dados foram analisados com o IBM SPSS Statistics 19. Fizemos correlações de Spearman e Pearson para comparar a duração do playback e a sobreposição dos machos aquele estímulo. Utilizando os valores médios para testar a existência de alguma variação na resposta dos machos aos testes de playback, os dados foram analisados através de uma regressão de medidas repetidas usando modelos de Equações de Estimativa Generalizadas (Generalized Estimated Equation; daqui em diante designadas GEE) (Liang e Zeger 1986, Zeger e Liang 1986). A GEE permite dados incompletos de um dos testes e ajusta playback repetidos por incorporar a variância da estrutura no modelo, um procedimento necessário, uma vez que cada machos foi

testados 2 vezes. Depois de testar a normalidade das variáveis com um teste de Shapiro-Wilk, fez-se GEEs usando um modelo linear. Este modelo de análise estatística, considera a repetição das medidas e as co-variáveis numa matriz de correlação das medidas intra-individuais, sem necessidade de se verificarem todos os pressupostos dos modelos lineares clássicos. A variável Duração das canções foi logaritmizada para normalizar. Para controlar efeitos da ordem de apresentação e do decurso da época reprodutiva, incluímos no modelo a ordem de realização dos dois tipos de testes (A/O) e a data em que foram realizadas as experiências de playback, considerando o primeiro dia de cada ano como o dia 1. As comparações entre condições experimentais foram realizadas por comparações emparelhadas dentro do teste GEE.

Cada variável de resposta foi analisada separadamente para os testes de playback efectuados. Os resultados das GEE's são apresentados como valores de qui-quadrado de Wald, e os testes foram considerados significativos quando $p < 0,05$. Todos os valores são apresentados como média \pm erro padrão.

Resultados

Canções

Durante o teste de sobreposição, os machos cantaram sempre durante o playback, apenas encurtando a duração das canções. A variação no repertório durante os testes não foi significativa (ANOVA univariada, todos $p > 0,9$). Também a ordem do playback não teve qualquer influência significativa nos resultados (ANOVA univariada, todos $p > 0,08$). Na experiência de alternância, apenas 8 machos (47.1%) sobrepuseram a canção do playback. Verificou-se uma forte correlação entre as sobreposições do canto

dos machos durante a experiência de alternância e a duração do playback (Pearson Correlation=0,618; $p=0.008$ e Spearman's $\rho=0.770$; $n=17$; $p<0.001$), ou seja, os estímulos demasiado longos acabaram sendo sobrepostos pelo animal focal, provavelmente pela sua duração. Os machos de milheirinha reagiram aos dois estímulos de playback. A duração das canções dos machos variou entre os testes (Wald test $\chi^2=11.379$, $gl=2$, $p=0.003$) sendo significativamente menor durante os playbacks alternados ($p=0.011$) e em sobreposição ($p=0.001$) relativamente ao controlo (Figura 5.2). Não se verificou qualquer alteração do pico de frequência das canções entre as três condições (C-A-O) ($p>0.4$). Os intervalos entre canções variaram significativamente (Wald test $\chi^2=9.047$, $gl=2$; $p=0.011$), com um aumento significativo do controlo para o alternado ($p=0.005$) (Figura 5.3). A diferença entre os estímulos alternado e sobreposto também foi significativa ($p=0.003$), uma vez que nos estímulos sobrepostos não se verificou um aumento significativo nos intervalos entre canções (Figura 5.3). Este resultado indica que as aves procuraram ajustar as suas canções de forma a evitar serem sobrepostas, quando tal era possível (alternado), mas não o fizeram quando foram sistematicamente sobrepostas.

As aves demoraram mais tempo a iniciar uma canção (Latência) após o estímulo sobreposto do que após um estímulo em alternância, como era de prevêr, uma vez que em alternância o estímulo é reproduzido no intervalo entre as canções (Figura 5.4). ($p<0.001$).

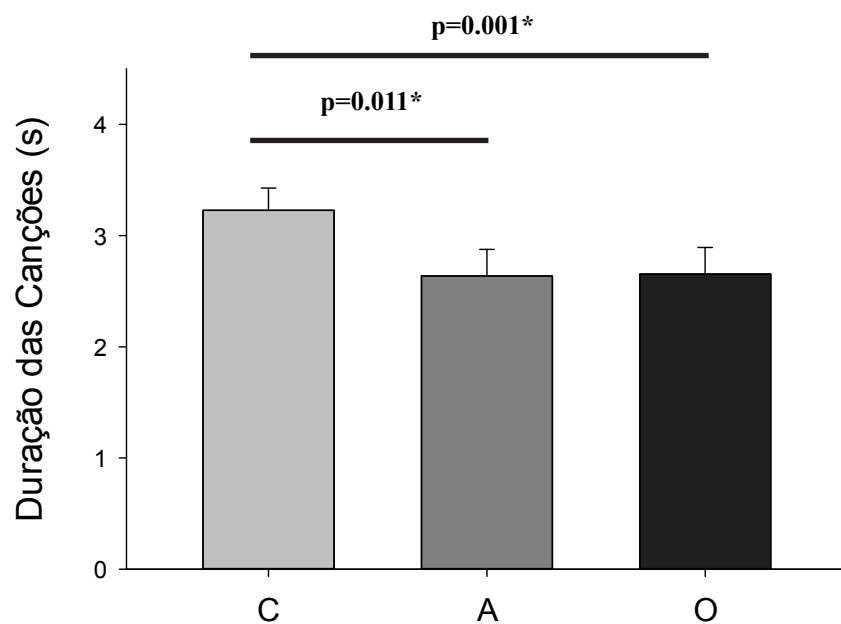


Figura 5.2 - - Duração média das canções durante cada um dos momentos de gravação. Canto natural (C), em sobreposição (O) e em alternância (A).

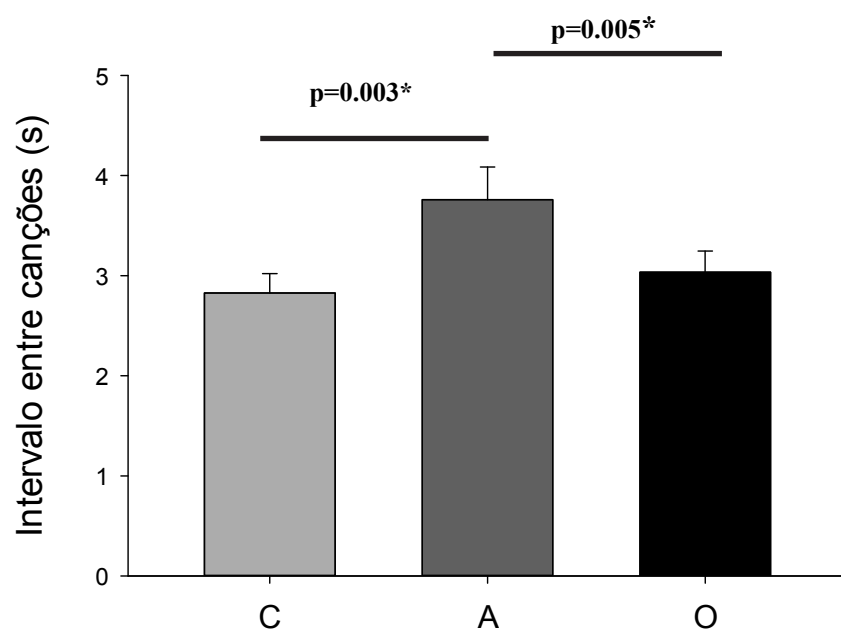


Figura 5.3 - Duração média dos intervalos durante cada um dos momentos de gravação. Canto natural (C), em sobreposição (O) e em alternância (A).

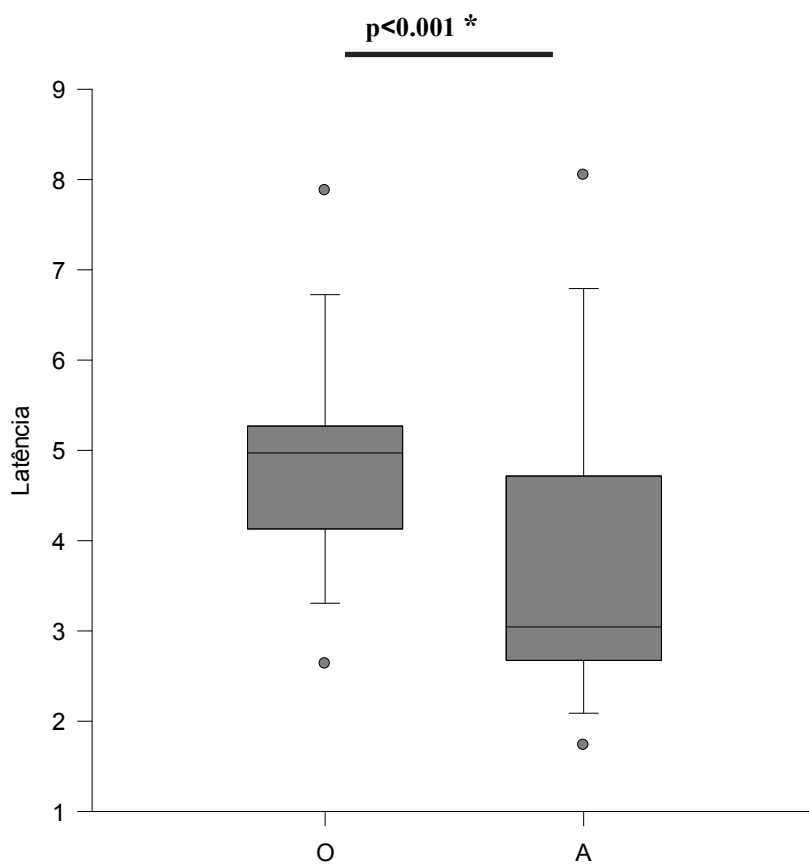


Figura 5.4 - Latência (tempo desde o início de uma canção do playback até ao início da canção do macho) em sobreposição (O) e em alternância (A).

Sílabas

Verificou-se uma variação significativa no intervalo entre sílabas (Wald test $\chi^2=6.25$, $gl=2$, $p=0.044$) correspondente a um aumento significativo dos intervalos inter-silábicos em sobreposição ($p=0,019$) relativamente a alternância (Figura 5.5). Essa variação traduziu-se numa variação significativa na taxa de sílabas (Wald test $\chi^2=14.0$, $gl=2$, $p=0.001$) (Fig 5.6), com uma redução significativa quer em alternância ($p<0.0001$) quer em sobreposição ($p=0.001$) relativamente ao controlo. Não se registaram diferenças significativas no pico de frequência das sílabas ($p>0.5$).

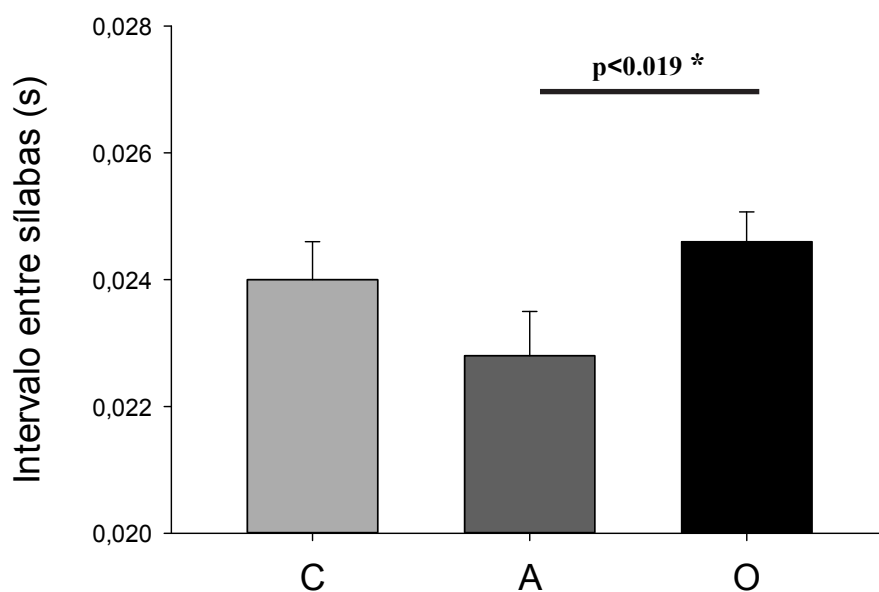


Figura 5.5 - – Variação dos intervalos inter-silábicos (N=11). C – canto natural; O – sobreposição; A – alternância.

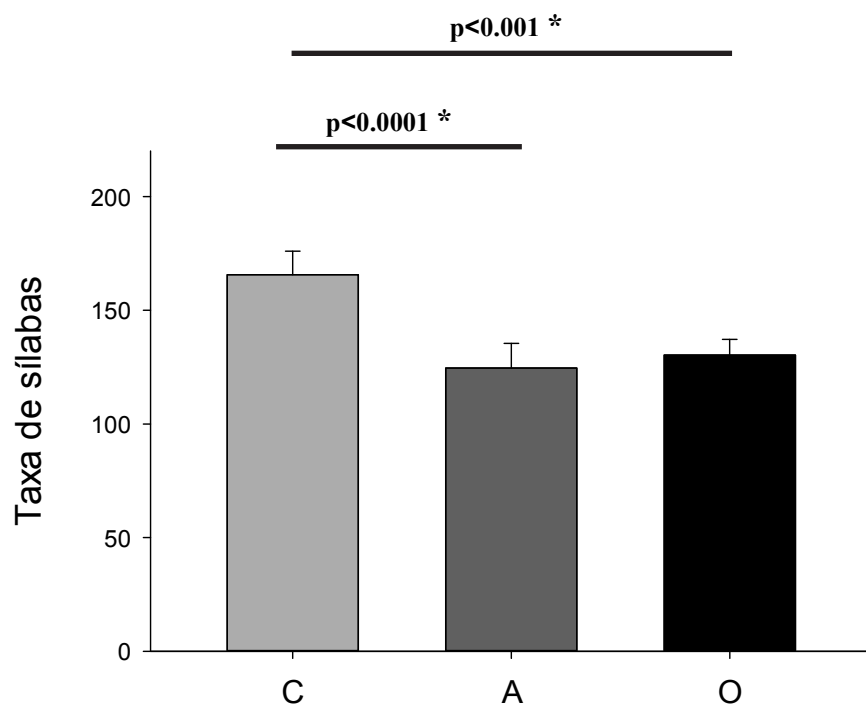


Figura 5.6 - – Variação da taxa silábicos (N=11). C – canto natural; O – sobreposição; A – alternância.

Discussão

As experiências revelaram um importante conjunto de diferenças nos resultados da apresentação dos playbacks. A sobreposição e alternância dos machos rivais que simulámos resultaram numa alteração do comportamento vocal dos machos testados. Verificou-se um aumento do intervalo entre as canções com os estímulos alternados, revelando que os machos procuraram evitar que as suas canções fossem sobrepostas pelo playback. O mesmo já não se verificou com o estímulo sobreposto, pois os machos não tinham possibilidade de evitar essa sobreposição. Verificou-se ainda uma alteração do intervalo entre sílabas a que correspondeu uma redução da taxa de sílabas, quer em alternância quer em sobreposição, indicando que os machos desaceleraram as suas canções.

Estes resultados apontam para um condicionamento da resposta dos machos de milheirinha dependente da forma como potenciais rivais cantam. Uma vez que a reacção dos machos aos dois estímulos foi semelhante, no que diz respeito à duração das canções, significa que a percepção dos machos ao canto sobreposto e alternado de um potencial rival suscita uma reacção. Desta forma, não se pode dizer que os machos cantam canções mais curtas em sobreposição por serem interrompidos (Searcy e Beecher, 2011) porque a diminuição ocorre da mesma maneira em alternância.

Tal como concluiu Dabelsteen e colaboradores (1997), tanto a sobreposição como a alternância de canções em pisco de peito ruivo (*Erithacus rubecula*) indicam a intencionalidade do receptor, embora durante a sobreposição a resposta seja mais enérgica. A mesma intencionalidade também se verificou com outras espécies (Hultsch e Todt 1982).

Apesar de a milheirinha ser uma espécie não territorial, a questão da discriminação entre indivíduos familiares e desconhecidos, também pode ocorrer, atendendo à sua ecologia reprodutiva. Os pares formam-se no início da Primavera, quando andam em bandos, e começam a reproduzir-se, exibindo o comportamento de guarda-de-par (Mota 1999). Por vezes, as fêmeas desta espécie fazem o ninho na mesma árvore, o que significa uma grande proximidade entre indivíduos. As disputas do macho do par com machos vizinhos ou com desconhecidos são frequentes (Mota 1999, Mota e Hoi-Leitner 2003) e envolvem tanto interações vocais como disputas físicas. O reconhecimento dos indivíduos deve fazer-se através da partilha de sílabas, que é maior entre indivíduos que se reproduzem na mesma área (Mota e Cardoso 2001).

A correspondência no tipo de canção foi interpretada como um meio para solucionar a presença de um rival (em rouxinóis, Geberzahn e Hultsch, 2004) ou a escalada de uma disputa territorial (em pardais cantores, Beecher e Brenowitz, 2005). Assim, uma resposta correspondente pode realçar a intenção agressiva do emissor (Krebs et al. 1981). Os testes com a mesma ave foram sempre realizados no mesmo dia. Apesar dos machos terem um repertório grande, executam-no com relativa rigidez. Analisadas as mudanças de canção, que se traduzem por alterações na sequência de sílabas, não houve qualquer relação com a resposta dos machos durante os playbacks e, portanto, as milheirinhas não fizeram qualquer tentativa para executar algum tipo de correspondência com o playback, caso tal fosse possível.

O tempo de latência foi significativamente menor em alternância relativamente à sobreposição. Além disso o intervalo entre as canções foi maior. É previsível que, caso a sua canção seja sobreposta, a ave procure esperar mais tempo para evitar que seja de novo sobreposta, o que foi registado. Contudo, constatamos que não se observou uma resposta agressiva por parte da ave testada, pois esta não tentou sobrepor as canções

alternadas do playback. A sobreposição de canções pode sinalizar uma escalada de agressividade nalgumas espécies (revisão de Naguib e Mennill 2010), o que parece não ter acontecido aqui. Talvez pelo facto de não ser uma espécie territorial, os machos não tomam como ameaça directa uma disputa vocal e, caso seja possível, procuram, principalmente, evitar que o seu canto seja prejudicado evitando a sobreposição. Tal está também bem adaptado a uma espécie em que é muito frequente vários machos cantarem em simultâneo, em locais que não são de proximidade dos seus ninhos – como são as zonas de alimentação – em que parece haver uma espécie de coro vocal.

Não se verificou uma sobreposição do playback em alternância, havendo uma forte correlação entre os casos em que os machos sobrepuseram a sua canção à do playback e a duração do playback. Significa que quando o playback era mais longo o macho focal iniciava a sua canção antes do playback terminar, mas quando a duração do playback era menor, não havia sobreposição da canção seguinte e os machos inseriam as suas canções nos intervalos inter-playback. Este facto poderá estar relacionado com a flexibilidade muito limitada no canto desta espécie, ainda que os machos possam terminar as canções em qualquer ponto.

Em algumas espécies o aumento da taxa de canto em sobreposição foi referido como estando relacionado com comportamentos agressivos (Naguib et al. 1999, Kunc et al. 2006, DuBois et al. 2009), embora a forma como se avalia se uma resposta vocal é ou não agressiva está longe de ser evidente (Searcy e Beecher 2009). No caso da milheirinha, há indícios de que poderá haver um evitar de conflito, uma vez que a duração das canções diminui, o intervalo entre canções aumenta ligeiramente e a duração dos intervalos inter-silábicos e a taxa silábica aumentam também, tudo isto relativamente ao canto natural. Quanto às hipóteses levantadas pelos estudos de playback interactivo, sobre o valor da sobreposição e/ou alternância do canto, as

variações temporais e o sincronismo do canto ocorridas durante os playbacks parecem estar relacionadas com uma forma de prevenir a sobreposição (Poop et al. 1985, Naguib e Mennill 2010), evitando assim a escalada de agressividade, ou uma maneira de tentar reduzir o nível de agressão. Outra hipótese poderá estar relacionada com o facto de as aves não se conseguirem ouvir tão bem durante a sobreposição, cometendo mais erros na execução, o que já não acontece em alternância, conseguindo ajustar o canto para um nível mais alto de precisão

Como já foi referido, intervalos intersilábicos mais curtos são um sinal agressivo, tal como Cardoso e colaboradores (2007) sugerem. O contrário, i. é, um aumento do intervalo silábico, será uma tentativa de diminuir ou evitar comportamentos agressivos. A resposta dos machos de milheirinha, parece indicar uma redução do nível de agressividade, pois verificou-se uma redução da taxa silábica, quer durante a sobreposição que em alternância. Contudo, a análise dos intervalos inter-silábicos revelou uma redução daqueles em alternância e um aumento em sobreposição – diferença que foi significativa. Isto poderá sugerir que as aves responderam de forma mais agressiva aos estímulos alternados que aos em sobreposição, onde se verificou um ligeiro aumento dos intervalos relativamente à situação de controlo. Talvez as aves percebam um estímulo alternado como menos ameaçador e respondam de forma mais agressiva, e que perante um estímulo de forte intensidade agressiva (sobreposição) apresentem uma resposta mais cautelosa.

Estes resultados vêm demonstrar que a resposta dos machos à alternância e sobreposição do canto não é um acaso e poderá ser mais variada do que se julgava. Futuras investigações devem olhar mais em detalhe para as formas de resposta dos machos, procurando medidas independentes de intenção agressiva dos machos. Seria importante verificar se as respostas diferem de acordo com a condição dos machos.

Referências

- Beecher MD, Brenowitz EA. 2005. Functional aspects of song learning in songbirds. *Trends Ecol Evol.* 20:143-149.
- Botero CA, Riveros JM, Vehrencamp SL. 2007. Relative threat and recognition ability in the responses of tropical mockingbirds to song playback. *Anim Behav.* 73:661-669.
- Briefer E, Thierry A, Fanny R. 2009. Response to displaced neighbours in a territorial songbird with a large repertoire. *Naturwissenschaften.* 96:1067-1077.
- Brindley EL. 1991. Response of European robins to playback of song: neighbour recognition and overlapping. *Anim Behav.* 41:503-512.
- Brumm H. 2006. Signalling through acoustic windows: nightingales avoid interspecific competition by short-term adjustment of song timing. *J Comp Physiol A.* 192:1279–1285.
- Burt JM, Campbell SE, Beecher MD. 2001. Song type matching as threat: a test using interactive playback. *Anim Behav.* 62: 1163-1170.
- Cardoso GC, Mota PG, Depraz V. 2007. Female and male serins (*Serinus serinus*) respond differently to derived song traits. *Behav Ecol Sociobiol.* 61:1425-1436
- Dabelsteen T, McGregor PK, Holland J, Tobias JA, Pedersen SB. 1997. The signal function of overlapping singing in male robins. *Anim Behav.* 53:249–256.
- Dabesteen T, McGregor PK, Shepherd M, Whittaker X, Pedersen SB. 1996. The signal value of overlapping different from that of alternating during matched singing in Great Tits? *J Avian Biol.* 27:189-194.

- DuBois AL, Nowicki S, Searcy WA. 2009. Swamp sparrows modulate vocal performance in an aggressive context. *Biol Lett* 5:163-165.
- Fisher J, 1954. Evolution and bird sociality. In: Huxley j, Hardy A. Ford E (Eds) *Evolution as a process*. Allen and Unwin, London, pp71-83.
- Fotheringham JR, Martin PR, Ratcliffe L. 1997. Song transmission and auditory perception of distance in wood warblers (Parulinae). *Anim Behav.* 53:1271-1285.
- Geberzahn N, Hultsch H. 2004. Rules of song development and their use in vocal interactions by birds with large repertoires. *An Acad Bras Cienc.* 76:209-218.
- Gill FB, Lanyon WE. 1964. Experiments on species discrimination in blue-winged Waeblers. *Auk.* 81:53-64.
- Godard R. 1991. Long-term memory of individual neighbors in a migratory songbird. *Nature.* 350:228-229.
- Godard R, Wiley R. 1995. Individual recognition of song repertoires in wood warblers. *Behav Ecol Sociobiol.* 37:119-123.
- Grant BR. 1984. The significance of song variation in a population of Darwin's finches. *Behav.* 89:90-116.
- Hall ML. 2004. A review of hypotheses for the functions of avian duetting. *Behav Ecol Sociobiol.* 55:415-43
- Hultsch H, Todt D. 1982. Temporal performance roles during vocal interactions in nightingales (*Luscinia megarhynchos* B.). *Behav Ecol Sociobiol.* 11:253-260.
- Hurlbert, S.H. 1984. Pseudoreplication and the design of ecological field experiments.

- Ecol. Monogr. 54, 187–211.
- Hyman J. 2003. Countersinging as a signal of aggression in a territorial songbird. *Anim Behav.* 65:1179-1185.
- Krebs JR., Ashcroft R, Van Orsdol, K.1981. Song matching in the great tit *Parus major* L. *Animal Behaviour.* 29:918-923.
- Kunc HP, Amrhein V, Naguib M. 2006. Vocal interactions in nightingales, *Luscinia megarhynchos*: more aggressive males have higher pairing success. *Anim Behav.* 72:25-30.
- Liang KY, Zeger SL. 1986: Longitudinal data analysis using generalized linear models. *Biometrika.* 73:13-22.
- Mathevon N, Aubin T. 1997. Reaction to conspecific degraded song by the wren *Troglodytes troglodytes*: Territorial response and choice of song post. *Behav Process.* 39:77-84.
- McGregor PK. 2000. Playback experiments: design and analysis. *Acta Ethol.* 3:3–8
- McGregor PK, Dabelsteen T. 1996. Communication networks. In: *Ecology and Evolution of Acoustic Communication in Birds* (Ed. By D. E. Kroodsma & E. H. Miller), pp. 409–425. New York: Cornell University Press.
- McGregor PK, Peake TM. 2000. Communication networks: social environments for receiving and signalling behaviour. *Acta Ethol.* 2:71–81.
- Mennill DJ, Ratcliffe L. 2000. A field test of Syrinx software in interactive playback. *Bioacoustics* 11:77-86.
- Mota PG, Cardoso GC. 2001. Song organisation and patterns of variation in the serin

(*Serinus serinus*). *Acta Ethol.* 3:141-150

Mota PG. 1999. The functions of song in the Serin (*Serinus serinus*). *Ethology.* 105:137-148.

Mota PG. 1995. *Ecologia Comportamental da Reprodução no Serino (Serinus serinus Aves: Fringillidae)*. PhD thesis, University of Coimbra, Coimbra.

Mota PG, Hoi-Leitner M. 2003. Intense extrapair behaviour in a semicolonial passerine does not result in extrapair fertilizations. *Anim Behav.* 66:1019-1026.

Naguib M. 1999. Effects of song overlapping and alternating on nocturnally singing nightingales. *Anim Behav* 58:1061–1067.

Naguib M. 1995. Auditory Distance Assessment of Singing Conspecifics in Carolina Wrens - the Role of Reverberation and Frequency-Dependent Attenuation. *Anim Behav.* 50:1297-1307.

Naguib M, Fichtel C, Todt D. 1999. Nightingales respond more strongly to vocal leaders of simulated dyadic interactions. *Proc R Soc Lond B.* 266:537–542.

Naguib M, Mennill DJ. 2010. The signal value of birdsong: empirical evidence suggests song overlapping is a signal. *Anim Behav.* 80:11-15

Naguib M, Wiley RH. 2001. Estimating the distance to a source of sound: mechanisms and adaptations for long-range communication. *Anim Behav.* 62:825-837.

Osiejuk TS, Ratynska K, Cygan JP. 2004. Signal value of alternating and overlapping singing in the Yellowhammer *Emberiza citrinella*. *J Ethol.* 22:55-61.

Osiejuk TS, Ratynska K, Cygan JP. 2007. Corn bunting (*Miliaria calandra*) males respond differently to alternating and overlapping playback of song. *J Ethol.*

25:159-168.

- Podos J, Huber SK, Taft B. 2004. Bird song: the interface of evolution and mechanism. *Ann Rev Ecol Sys.* 35:55–87.
- Popp JW, Ficken RW, Reinartz JA. 1985. Short-term temporal avoidance of interspecific acoustic interference among forest birds. *Auk.* 102:744-748
- Price JJ. 1999. Recognition of family-specific calls in stripe-backed wrens. *Anim Behav.* 57:483-492.
- Searcy WA, Beecher MD. 2011. Continued scepticism that song overlapping is a signal. *Anim. Behav.* 81:e1-e4.
- Searcy WA, Podos J, Peters S, Nowicki S. 1995. Discrimination of song types and variants in song sparrows. *Anim. Behav.* 49:1219–1226.
- Searcy WA, Beecher MD. 2009. Song as an aggressive signal in songbirds. *Animal Behaviour.* 78:1281-1292.
- Searcy WA, Nowicki S. 2005. *The Evolution of Animal Communication: Reliability and Deception in Signaling Systems.* Princeton, NJ: Princeton University Press.
- Skierczynski M, Osiejuk TS. 2010. Sharing songs within a local dialect does not hinder neighbour-stranger discrimination in ortolan bunting (*Emberiza hortulana*) males. *Behav.* 147:333-351.
- Sprau P, Roth T, Amrhein V, Naguib M. 2012. Distance-dependent responses by eavesdroppers on neighbour-stranger interactions in nightingales. *Anim. Behav.* 83:961-968.
- Temeles E. 1994. The role of neighbours in territorial systems: when are they ‘dear

enemies'? *Animal Behaviour*. 47:339– 350.

Zeger,SL, Liang KY. 1986: Longitudinal data analysis for discrete and continuous outcomes. *Biometrics*. 42:121-130.

CAPÍTULO 6

Efeito do ruído antropogénico no canto da milheirinha,

Serinus serinus

Minha alma é uma orquestra oculta; não sei que instrumentos tange e range, cordas e harpas, tímboles e tambores, dentro de mim. Só me conheço como sinfonia.

Bernardo Soares - Livro do Desassossego.

Resumo

A comunicação acústica nas aves é de extrema importância para a sua sobrevivência e sucesso reprodutivo, existindo uma relação entre a qualidade do emissor e da mensagem (Bradbury and Vehrencamp 1998). Qualquer ruído pode influenciar este tipo particular de comunicação e repercutir-se num ou em vários aspectos funcionais. Para determinar as consequências a longo prazo do ruído antropogénico, é necessário compreender como é que determinadas características do canto são alteradas e qual a sua possível importância na sobrevivência e distribuição dos indivíduos. Neste trabalho analisámos a forma como o ruído influencia o canto das milheirinhas (*Serinus serinus*). Esta espécie apresenta vocalizações com características muito particulares e extremas, dentro do género. Comparámos gravações do mesmo indivíduo mas efectuadas em condições de diferentes níveis de ruído e verificámos que a frequência mínima aumentou quando o ruído de fundo era mais elevado. Não se registou qualquer variação em nenhuma das outras características analisadas do canto desta espécie. A análise da variação temporal no ajuste da frequência mínima indicou que este se faz rapidamente e é reversível. Os nossos resultados evidenciam nesta espécie a existência de plasticidade vocal em resposta à variação das condições de ruído ambiental.

Introdução

O ruído humano é um dos potenciais factores que contribui para a degradação do ambiente e, conseqüentemente, para o aumento do risco de extinção em algumas espécies, pela perturbação que exerce na comunicação acústica entre indivíduos (revisão de Badyaev 2005 e Laiolo 2010). Por esta razão, tem sido um tema bastante discutido nos últimos anos (Arévalo e Newhard 2011, revisão de Barber et al 2010), uma vez que houve um aumento considerável das principais fontes de ruído, particularmente nos centros urbanos e nas estradas

O ruído pode definir-se como qualquer som indesejável, inesperado ou desagradável, natural, como um curso de água, ou artificial, como o tráfego automóvel, que tem como efeito reduzir a transmissibilidade ou ocultar totalmente um sinal. Seja qual for a sua origem, o ruído pode influenciar a comunicação acústica, uma vez que esta depende de uma boa recepção dos sinais (Slabbekoorn e Ripmeester 2007, Laiolo et al. 2008) e, dessa forma, afectar o comportamento dos animais. Há várias formas pelas quais os animais podem tentar compensar o efeito do ruído, como através do aumento da amplitude do sinal ou mudando a frequência de emissão de forma a evitar sobreposição de frequências. O efeito ou reflexo de Lombard (Lombard, 1911), descoberto em seres humanos, acontece quando há uma compensação na comunicação acústica pelo aumento do ruído ambiente, através do aumento da intensidade da voz de maneira a tornar a comunicação mais eficaz. Esse tipo de compensação foi posteriormente observado noutras espécies animais, com repercussão em diversos traços acústicos como a frequência (Slabbekoorn e Peet 2003, Parris et al. 2009, Cardoso e Atwell 2011), a taxa de canto (Francis et al. 2011) e a taxa silábica (Potvin et al. 2011). O reflexo de Fletcher (Fletcher e Riopelle 1960), descreve também uma distorção na comunicação

acústica, através da redução da amplitude vocal como resposta à percepção de um aumento na intensidade vocal (feedback), e foi detectado no Periquito-australiano, *Melopsittacus undulatus* (Osmanski e Dooling, 2009)

No caso das espécies que dependem muito da comunicação acústica, o ruído poderá provocar alterações quer a nível da produção quer da percepção auditiva durante este tipo de comunicação (Nowacek et al. 2007). É o que acontece com algumas espécies de aves que ou evitam ambientes com muito ruído ou alteram o comportamento vocal (Slabbekoorn e Boer-Visser 2006). Os efeitos dessa alteração na comunicação são variados, podendo interferir na estrutura e distribuição de populações de várias espécies. As consequências podem ser ao nível da defesa de território, acasalamento e alimentação, reduzindo a sobrevivência dos indivíduos. Quando há desvio na frequência do canto (Potvin et al. 2011, Verzijden et al. 2010), nos padrões temporais ou na amplitude de frequência (revisão de Laiolo 2010), o resultado pode ser uma adaptação às novas condições acústicas. Foi também descrita, para várias espécies, uma relação entre comportamentos agonísticos e ruído ambiente (Goudie e Jones, 2004; Mockford e Marshall 2009), com uma resposta muito mais forte entre machos rivais quando o ruído era menor.

Os ruídos antropogénicos são geralmente de baixa frequência, o que faz prever que aves que cantam em ambientes ruidosos e em frequências próximas das do ruído alterem a frequência do canto para evitar a sobreposição de frequências entre som produzido e ruído de fundo, o chamado efeito de máscara. Rheindt (2003) analisou a distribuição de passeriformes relativamente à proximidade de estradas, tendo encontrado evidências consistentes entre a relação da frequência mínima e o efeito negativo do ruído do tráfego na densidade de Passeriformes, concluindo que aves que emitem vocalizações com frequências mais altas, são menos afectadas por ruídos antropogénicos. Também

Hu e Cardoso (2010) registaram um ajuste da frequência mínima em 12 espécies urbanas de passeriformes e não passeriformes.

O ruído pode ser permanente, i. é, ser maior em determinadas zonas quando comparadas com zonas mais calmas, ou pode ser temporário, como o resultante de tráfego, pela passagem dos automóveis. Assim, também a resposta pode ser permanente ou temporária. A frequência mínima das sílabas é muitas vezes alterada mas volta ao normal se o ruído desaparece (Bermúdez-Cuamatzin et al 2011). No canto do Tico-tico musical, *Melospiza melodia*, registam-se frequências mínimas mais elevadas, nos locais com um nível de ruído maior, o que revela alguma plasticidade comportamental (Wood e Yezerinac, 2006). Bermúdez-Cuamatzin e colaboradores (2009, 2011) concluíram que os tentilhões, *Carpodacus mexicanus*, usam mais do que uma estratégia para responder ao ruído, elevando a frequência mínima, por um lado, e usando convenientemente sílabas com diferentes frequências mínimas, por outro. Estes resultados evidenciam uma adaptação acústica muito rápida, como já tinham referido também Verzijden e colaboradores (2010) com a felosa-comum (*Phylloscopus collybita*). A comparação entre o canto de melros, *Turdus merula*, do centro de Viena e de bosques próximos, mostrou que, para além da variação na frequência, os indivíduos sujeitos a maior ruído apresentavam uma taxa de canto maior (Nemeth e Brumm 2009). Slabbekoorn e colaboradores (2012) argumentam que um aumento das características espectrais do canto em condições de ruído urbano pode ser adaptativo, mas a plasticidade vocal em resposta ao aumento do tráfego urbano não é necessariamente adaptativa.

É possível que as alterações no canto das aves tenham repercussões evolutivas, se se verificar que os receptores passam a ter um comportamento diferente, ou se se mostram mesmo indiferentes aos sinais modificados, especialmente se esses efeitos tiverem consequências ao nível do sucesso reprodutivo dos indivíduos. O canto das aves é

fortemente seleccionado (Searcy e Yasukawa 1996, Collins 2004, Soma e Garamszegi 2011 ver também Byers e Kroodsma 2009), pelo que caso os ruídos antropogénicos adulterem os sinais acústicos, tal poderá afectar a selecção baseada nesses sinais. Um dos efeitos imediatos da perturbação causada pelo ruído na comunicação vocal é a diminuição da distância a que os sinais se tornam perceptíveis (Barber et al., 2010; Naguib e Wiley, 2001). Esta pode ser uma das causas da alteração de comportamento de acasalamento, como verificado em Mandarins (Swaddle e Page 2007). Nesta espécie, a preferência das fêmeas pelos machos do par diminui em ambientes com mais ruído, sugerindo que podem aumentar os comportamentos extra-par.

O presente estudo sobre o efeito do ruído em algumas características do canto da milheirinha, baseou-se na análise de gravações do mesmo indivíduo com diferentes níveis de ruído, obtidas em ambiente natural. Comparámos diversos parâmetros das canções e/ou sílabas com o objectivo de avaliar o impacto do ruído humano na comunicação acústica do canto desta espécie e alguma tendência para a duração temporal das alterações verificadas, i. é, se as variações causadas pelo ruído se mantinham ou não.

O canto das milheirinhas apresenta uma elevada amplitude de frequência (8kHz), quando comparada com outras espécies do mesmo género. (Mota e Cardoso 2001, Cardoso e Mota 2007). Nesta espécie não há grande plasticidade no uso de sílabas, nem mesmo entre anos (Capítulo 3). Diaz e colaboradores (2011) verificaram existir um aumento da taxa de canto dos machos de milheirinha até um limite de ruído de 70 dBa, a partir do qual se verificava uma diminuição drástica da actividade vocal. Alguns trabalhos sobre respostas vocais a determinadas características do canto da milheirinha mostraram que as fêmeas preferem a sintaxe repetitiva, preterindo a sintaxe sequencial do canto dos machos (Cardoso e Mota 2004) e as canções com frequências mais altas

(Cardoso et al. 2007). Os testes efectuados por Cardoso e colaboradores (2007) apoiam a hipótese de que as canções com uma taxa silábica mais elevada têm uma função agressiva para machos e fêmeas de milheirinha. Assim, quaisquer alterações na frequência dos sons ou na taxa de produção podem afectar a atractividade do canto nesta espécie.

Pouco se sabe ainda sobre as alterações nas características acústicas do canto da milheirinha provocadas pelo ruído com origem antropogénica, sendo que o único estudo existente (Diaz et al. 2011) apenas aborda alterações na taxa de canto. Procurámos analisar aqui se o ruído afecta as características físicas dos sons produzidos e se os machos têm a capacidade para o fazer, em resposta ao constrangimento ambiental imposto.

Material e Métodos

A área de estudo é a mesma já referida no Capítulo 2. A partir das gravações obtidas durante os anos 2002 a 2007, procurámos detalhadamente aquelas em que se verificava variação de ruído na mesma gravação. O ruído era proveniente principalmente do tráfego automóvel, mas havia também algum ruído proveniente de máquinas de actividade agrícola. Procurou-se que o ruído das gravações seleccionadas não fosse excessivamente forte, para permitir a observação e medição das frequências mínimas através da análise de espectrogramas (Figura 6.1). Cardoso e Atwell (2011), fizeram uma análise ao canto de diversas espécies de aves urbanas e verificaram que as frequências mais baixas podem ser reconhecidas visualmente e medidas, mesmo na presença de ruído de fundo.

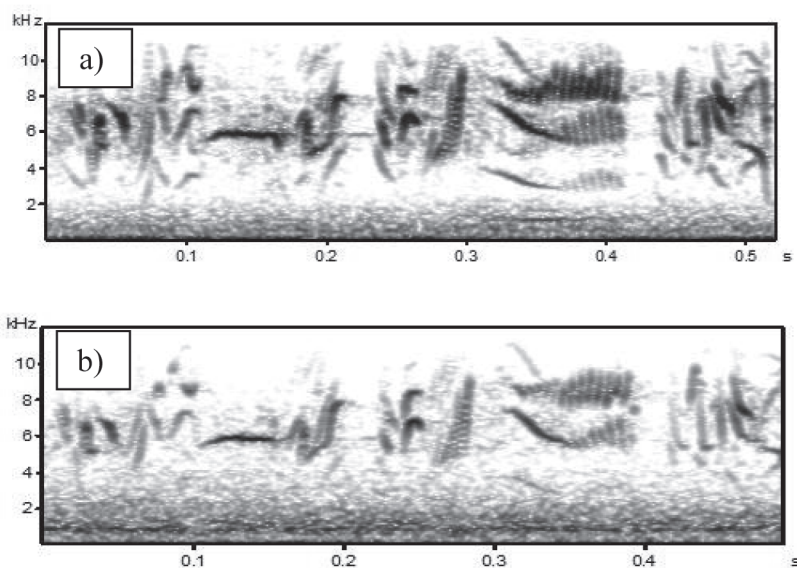


Figura 6.1 - - Espectrogramas de uma pequena parte de uma canção pertencente à mesma ave, em condições de a) menor ruído e b) maior ruído.

Seleccionámos gravações de 14 indivíduos e escolhemos uma sequência de sílabas, a mesma para cada ave, e analisámos essa sequência em duas canções realizadas durante períodos de maior ruído e duas durante períodos de menor ruído. As gravações foram analisadas com o Avisoft SASLab Pro software, sem qualquer tipo de filtros, e com a resolução das análises do Capítulo 3. As variáveis analisadas foram: frequência mínima (FreqMín), frequência máxima (Freq.Máx) e frequência dominante (Freq.Dom). Medimos também a duração total da sequência de sílabas considerada. O nível de ruído foi obtido através do valor de rms (root mean square). Foi ainda medida a taxa de canto (nº de canções/min), a duração das canções e o intervalo inter-canções, nas duas situações de ruído consideradas. Os parâmetros que medimos não são afectados pelas condições de gravação, como a distância ao emissor, pelo que podemos realizar estas comparações. Todas as aves foram individualmente identificadas através de combinações únicas de anilhas coloridas. O nível do ruído foi medido sempre o mais

próximo possível da canção a analisar, tendo o cuidado de não incluir nesta leitura sons provenientes de outras fontes, que não o ruído antropogénico.

Análise estatística

Todos os valores representam médias±EP. Verificámos a distribuição normal dos dados com o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Comparámos todos os valores médios obtidos para cada indivíduo usando um teste *t* para amostras emparelhadas. Todos os testes estatísticos foram feitos usando o SPSS Statistics v.19.

Resultados

Os valores relativos de ruído apresentam uma diferença significativa ($t=7.533$; $gl=13$; $p<0.0001$) entre as duas situações consideradas. Verificou-se um aumento muito significativo na frequência mínima das sequências de canto em condições de maior ruído ambiente ($t=-4.95$, $gl=13$; $p<0.0001$) (Figura 6.2). Não se registou qualquer outra variação significativa nas características do canto analisadas (Tabela VIII).

Ainda que não tenha ocorrido qualquer variação significativa na frequência máxima, verificou-se, para alguns elementos das sílabas, uma subida da frequência mínima e também da máxima (Figura 6.2) o que foi observado em várias situações. Os valores que obtivemos, são médias de um conjunto de sílabas e elementos, não tendo sido feita uma análise mais minuciosa dos elementos constituintes das sílabas. O facto de não ter havido variação na duração da sequência considerada, significa que não houve alteração na duração das sílabas ou dos intervalos inter-silábicos. Os valores foram medidos num

mesmo conjunto de sílabas para cada ave. Pelo menos nestas sequências, parece não haver diferença no uso de sílabas. Mas, não podemos descartar a possibilidade de isso ocorrer em outras regiões das canções. Nas gravações utilizadas, as zonas de maior ruído tanto podiam ocorrer antes como depois das de menor ruído. A frequência mínima não foi afectada pela ordem de medição nas duas situações ($r=0.394$; $n=14$; $p=0.156$). Isto significa que, independentemente da ordem do ruído na gravação, a frequência mínima variava rapidamente de acordo com a intensidade de ruído presente, o que significa que o desvio na frequência mínima é rapidamente reversível, uma vez que estamos a considerar gravações muito curtas ($X=35.33\pm 3.74s$).

Tabela VIII – Resultados dos Teste $-t$ para amostras emparelhadas, aos valores médios das variáveis duração da sequência de sílabas analisada (Dur.Seq), frequência mínim (Freq. Mín), frequência máxima (Freq.Máx), frequência de amplitude máxima (Freq.Ampl.Máx.), duração das canções (DurT), duração dos intervalos inter-canções (IntT) e taxa de canto (TaxaCanto).

	Média±EP	Média±EP	<i>t</i>	gl	p
	+Ruído	-Ruído			
Dur.Seq	0.46±0,02	0.46±0.02	0.837	13	0.417
Freq.Mín(kHz)	2407±85	2083±59	4.950	13	<0.001
Freq.Máx(kHz)	10061±64	10058±59	0.078	13	0.939
Freq.Ampl Máx. (kHz)	6421±309	6744±204	1.062	13	0.308
DurT(seg)	3.22±0,29	3.34±0.24	0.637	13	0.535
IntT(seg)	2.91±0.42	2,67±0.26	0.780	13	0.449
TaxaCanto(nº canções/min)	11.12±0.62	11.02±0.62	0.138	13	0.893

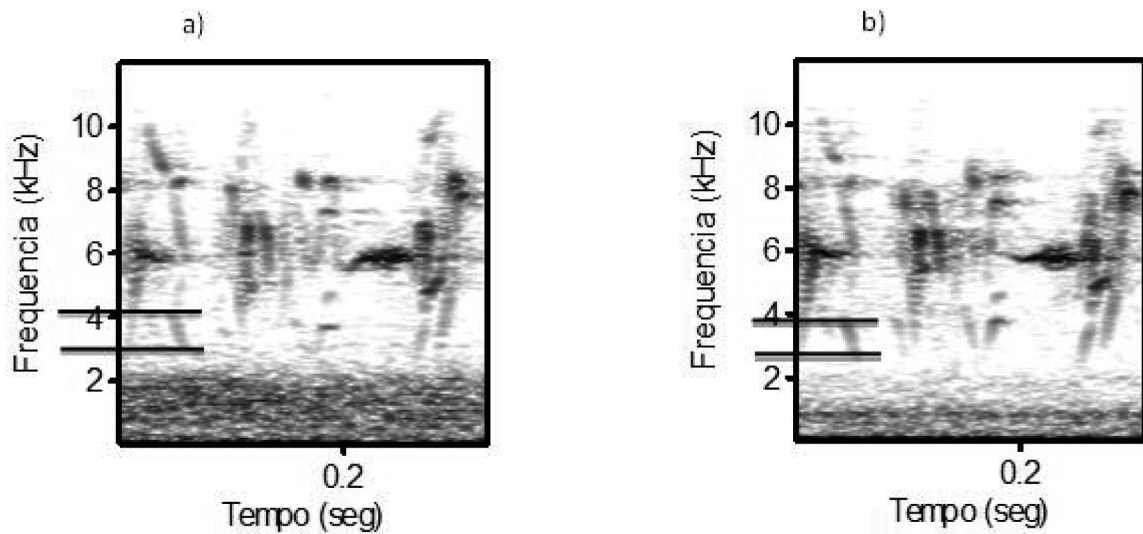


Fig. 6.2 - - Espectrogramas de uma pequena parte de uma canção pertencente à mesma ave, em condições de a) maior ruído e b) menor ruído. As linhas horizontais representam as frequências mínima e máxima de um elemento pertencente a uma sílaba e pode ler-se uma alteração destes valores entre as duas situações.

Discussão

Neste trabalho verificámos que as milheirinhas alteram e ajustam a frequência mínima do seu canto em resposta à presença no ambiente de ruído antropogénico de baixa frequência, tal como foi descrito para algumas outras espécies (por exemplo: Hamao et al. 2011, Verzijden et al. 2010, Hu e Cardoso 2009).

Apesar do canto desta espécie ser muito rígido sequencialmente (Capítulo 3), os indivíduos exibem plasticidade na produção das sílabas, ajustando a frequência mínima às condições ambientais. Registou-se também um aumento na frequência máxima de alguns elementos que compõem as sílabas. No entanto os valores médios da frequência

máxima não se alteraram.

O ruído antropogénico ocorre principalmente em frequências inferiores a 2kHz, o que se situa abaixo da frequência mínima das canções das milheirinhas. No entanto, o ruído pode atingir frequências superiores, assim como a frequência mínima das canções das milheirinhas também pode descer abaixo dos 2kHz. Existem evidências de que o efeito de máscara não existe em espécies cuja frequência mínima está acima do ruído antropogénico (Hu e Cardoso 2009), não se verificando ajustes de frequência nesses casos. Na milheirinha existe uma sobreposição, ainda que reduzida entre os valores de frequência mínima do canto e a frequência máxima do ruído, podendo verificar-se o efeito de máscara. Em consequência, as aves aumentam a frequência para se fazerem ouvir em boas condições.

Num estudo recente (Díaz et al. 2011) constataram que os machos de milheirinha cantaram durante mais tempo, quando sujeitos a intenso ruído antropogénico. Este aumento de canto implica mais custos para as aves, especialmente importantes durante a época reprodutiva (Mota 1999). Aqueles autores não mediram características físicas do canto das aves, pelo que este é o primeiro estudo a documentar um efeito na estrutura física dos sons em milheirinhas.

As fêmeas desta espécie preferem canções mais rápidas e com frequência mais alta, enquanto os machos reagem a canções mais rápidas como sendo um sinal de ameaça (Cardoso et al. 2007). Não observámos qualquer alteração nestas características em resultado do aumento do ruído, nas gravações analisadas. Assim, o efeito do ruído antropogénico sobre o canto poderá ter reduzidas consequências sobre a preferência das fêmeas ou enquanto sinal agressivo para os machos. As alterações na taxa de canto registadas por Díaz e colaboradores (2011), contudo, podem já ter efeitos de maior

amplitude. Mota (1999) refere que a actividade vocal dos machos está positivamente relacionada com a construção do ninho pelas fêmeas. Durante a época reprodutiva e em condições de maior ruído, o esforço dos machos poderá ser maior do que em ambientes em que o ruído é menor. O aumento nas frequências mínimas poderá ser apenas um meio de evitar o efeito de máscara no canto, contudo não existe nenhum resultado que relacione esse aumento com alguma vantagem que os machos possam obter uma vez que não há dados que relacionem a frequência mínima com algum tipo de resposta intra ou inter sexual.

Uma outra forma de resposta ao ruído é a alteração da sintaxe, passando as aves a usar mais sons que não são sobrepostos pelo ruído, havendo uma alteração da frequência de canto. Isto foi verificado em chapins-reais (Hamao et al. 2011). Neste trabalho não foi medida a variação na sintaxe das canções da milheirinha pelo que não podemos afirmar com certeza, mas dada a elevada rigidez estrutural do canto dos machos desta espécie, é provável que não se verifiquem alterações ao nível da sintaxe.

Esta investigação revelou também que a mudança das frequências mínimas com a variação do ruído pode ser muito rápida. A consequência a longo prazo, considerando a pressão selectiva do ruído, poderá ser um desvio nas frequências mais baixas. Contudo, é necessário um estudo mais pormenorizado do canto desta espécie em condições variáveis de ruído e a relação com o sucesso reprodutivo ou outro factor passível de selecção.

Concluimos que existe nesta espécie alguma flexibilidade silábica, relativamente a frequências mínimas. Este comportamento revela uma capacidade desta espécie para se adaptar a ambientes com elevado ruído antropogénico.

Referências

- Arevalo JE, Kimberly N. 2011. Traffic noise affects forest bird species in a protected tropical forest. *Rev Biol Trop*. 59:969-980.
- Badyaev AV. 2005. Stress-induced variation in evolution: from behavioural plasticity to genetic assimilation. *Proc R Soc B*. 272:877-886
- Barber JR, Crooks KR, Fristrup KM. 2010. The costs of chronic noise exposure for terrestrial organisms. *Trends Ecol Evol*. 25:180-189.
- Bermúdez-Cuamatzin E, Ríos-Chelén AA, Gil D, Garcia CM. 2009. Strategies of song adaptation to urban noise in the house finch: syllable pitch plasticity or differential syllable use? *Behaviour*. 146:1269–1286.
- Bermúdez-Cuamatzin E, Ríos-Chelén AA, Gil D, Gil D, Garcia CM. 2011. Experimental evidence for real-time song frequency shift in response to urban noise in a passerine bird. *Biol Lett*. 7:36-38.
- Bradbury JB, Vehrencamp SL. 1998. *Principles of Animal Communication*. Sinauer Associates, Inc.: Sunderland, MA
- Cardoso GC, Atwell JW. 2011. On the relation between loudness and the increased song frequency of urban birds. *Anim Behav*. 82:831-836.
- Cardoso GC, Mota PG. 2007. Song diversification and complexity in canaries and seedeaters (*Serinus* spp.). *Biol J Linn Soc*. 92:183-194.
- Cardoso GC, Mota PG, Depraz V. 2007. Female and male serins (*Serinus serinus*) respond differently to derived song traits. *Behav Ecol Sociobiol*. 61:1425-1436.

- Cardoso GC, Mota PG. 2004 Female serin (*Serinus serinus*) responses to song do not favour the predominant song syntax. *Ethol Ecol Evol.* 16:329-338.
- Collins S. 2004. Vocal fighting and flirting: the functions of birdsong. In: Marler P, Slabbekoorn H, editors. *Nature's music: the science of birdsong*. San Diego (CA): Elseviers-Academic Press. p. 39–79.
- Diaz M, Parra A, Gallardo C. 2011. Serins respond to anthropogenic noise by increasing vocal activity. *Behav Ecol.* 22:332-336.
- Fletcher JL, Riopelle AJ. 1960. Protective Effect of the Acoustic Reflex for Impulsive Noises. *J Acoust Soc Am.* 32:401-404.
- Francis CD, Ortega CP, Cruz A. 2011. Different behavioural responses to anthropogenic noise by two closely related passerine birds. *Biol Lett.* 7:850-852.
- Goudie RI, Jones IL. 2004. Dose-response relationships of harlequin duck behaviour to noise from low-level military jet over-flights in central Labrador. *Environ Conserv.* 31:289-298.
- Hamao S, Watanabe M, Mpri Y. 2011. Urban noise and male density affect songs in the great tit *Parus major*. *Ethol Ecol Evol.* 23:111-119.
- Hu Y, Cardoso GC. 2009 Are bird species that vocalize at higher frequencies preadapted to inhabit noisy urban areas? *Behav Ecol.* 20:1268-1273.
- Hu Y, Cardoso GC. 2010. Which birds adjust the frequency of vocalizations in urban noise? *Anim Behav.* 79:863-867
- Laiolo P. 2010. The emerging significance of bioacoustics in animal species conservation. *Biol Cons.* 143:1635-1645~

- Laiolo P, Tella JL. 2008. Social determinants of songbird vocal activity and implications for the persistence of small populations. *Anim Conserv.* 11:433-441.
- Lombard E. 1911. Le signe de l'élévation de la voix. *Ann Mal Oreil Larynx.* 37 :101-119.
- Mockford EJ, Marshall RC. 2009. Effects of urban noise on song and response behaviour in Great Tits. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 276:2979-2985.
- Mota PG, Cardoso GC. 2001. Song organisation and patterns of variation in the serin (*Serinus serinus*). *Acta Ethol.*3:141-150
- Mota PG. 1999. The functions of song in the Serin. *Ethology.* 105:137-148.
- Naguib M, Wiley RH. 2001. Estimating the distance to a source of sound: mechanisms and adaptations for long-range communication. *Anim Behav.* 62:825-837
- Nemeth E, Brumm, H. 2009. Blackbirds sing higher pitched songs in cities: adaptation to habitat acoustics or side-effect of urbanization? *Anim Behav.* 78:637-641.
- Nowacek DP, Thorne LH, Johnston DW, Tyack P. 2007. Responses of cetaceans to anthropogenic noise. *Mammal Rev.* 37: 81-115.
- Osmanski MS, Dooling RJ. 2009. The effect of altered auditory feedback on control of vocal production in budgerigars (*Melopsittacus undulatus*). *J Acoust soc Am.* 126:911-919.
- Parris KM, Velik-Lord M North JMA. 2009. Frogs call at a higher pitch in traffic noise. *Ecol Soc.* 14:25.
- Potvin DA, Parris KM, Mulder RA. 2011. Geographically pervasive effects of urban noise on frequency and syllable rate of songs and calls in silvereyes (*Zosterops*

lateralis). *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 278:2464-2469.

Rheindt FE. 2003. The impact of roads on birds: does song frequency play a role in determining susceptibility to noise pollution? *J fur Ornithologie.* 144:295–306.

Searcy WA, Yasukawa K. 1996. Song and female choice. In *Ecology and evolution of acoustic communication in birds* (ed. D. E. Kroodsma & E. H. Miller), pp. 454–473. Ithaca, NY: Cornell University Press.

Slabbekoorn H, den Boer-Visser A. 2006. Cities change the songs of birds. *Curr Biol.* 16:2326–2331.

Slabbekoorn H, Peet M. 2003. Birds sing at a higher pitch in urban noise. *Nature* 424:267

Slabbekoorn H, Ripmeester EAP. 2007. Birdsong and anthropogenic noise: implications and applications for conservation. *Mol Ecol.*17:72–83.

Slabbekoorn H, Yang XJ, Halfwerk W. 2012. Birds and anthropogenic noise: singing higher may matter. *Am Nat.* 180:142-145.

Soma M, Garamszegi LZ. 2011. Rethinking birdsong evolution: meta-analysis of the relationship between song complexity and reproductive success. *Behav Ecol.* 22:363–371.

Swaddle JP, Page LC. 2007. High levels of environmental noise erode pair preferences in zebra finches: implications for noise pollution. *Anim. Behav.* 74:363-368.

Verzijden MN, Ripmeester EAP, Ohms VR, Snelderwaard, Slabbekoorn H. 2010. Immediate spectral flexibility in singing chiffchaffs during experimental exposure to highway noise. *J Exp Biol.* 213:2575-2581.

Wood WE, Yezerinac SM. 2006. Song sparrow (*Melospiza melodia*) song varies with urban noise. *The Auk*. 123:650–659.

Conclusões

Nesta dissertação procurámos desvios vocais como medida do desempenho vocal, através da análise do canto dos machos milheirinha.

Foram abordadas várias questões fundamentais, apresentadas no capítulo 1, nomeadamente a alteração do canto entre anos, a relação entre o canto e idade e entre canto e a condição física. No capítulo 3 foi possível demonstrar que não há alterações significativas no canto nos indivíduos adultos, existindo apenas uma reduzida variação inter-individual na sequência de sílabas e no repertório. O canto da milheirinha é constituído por um repertório de 40-80 sílabas, que os machos produzem em longas sequências formadas por sílabas repetidas (modo repetitivo) e, diferentes (modo sequencial). De acordo com Beecher & Brenowitz (2005), as aves que aprendem novas canções e/ou sílabas, designadas “*open ended learners*”, podem ajustar o repertório ao de aves vizinhas. Na milheirinha isso implicaria a aprendizagem de longas e complexas sequências de sílabas novas. Sendo uma espécie com uma esperança de vida relativamente baixa (cerca de 2 anos) (Senar & Copete, 1990), este parece ser um esforço muito dispendioso em tão pouco tempo. Beecher e Brenowitz (2005) prevêm que quando repertórios são importantes, é melhor aprender muito em menos tempo, mas quando a partilha é importante o melhor é aprender pouco a pouco. A evolução da estrutura peculiar do canto da milheirinha parece ser um constrangimento a alterações, como a que se verifica na correspondência de canção entre indivíduos. Como uma bailarina ou um atleta de ginástica que precisa de uma grande estereotipia para executar uma sequência muito complicada de movimentos, o canto rápido e complexo da milheirinha limita a capacidade de modificar sua estrutura.

Isto reporta-nos a uma a questão muito importante: como é que um canto tão complexo

evoluiu? Existem pressões selectivas diferentes: inter-sexuais, que aumentam a aptidão das fêmeas e juvenis; intra-sexuais, que aumentam a aptidão dos machos (Cardoso e Mota 2004, Mota e Depraz 2004, Cardoso et al. 2007). O canto da milheirinha está no limite de diversos constrangimentos físicos, o que faz com que este comportamento seja energeticamente muito dispendioso, antevendo grandes benefícios para ambos os sexos. O canto da milheirinha será então um potencial sinal honesto da qualidade dos machos. Foi o que procurámos saber no capítulo 4, tentando relacionar o tamanho corporal com características do canto, uma vez que estes dois aspectos são muitas vezes reveladores da condição física dos indivíduos. Nas análises efectuadas às frequências do canto não se encontrou qualquer relação com o tamanho corporal, sugerindo que a condição dos machos não pode ser inferida pelas características analisadas do seu desempenho vocal, sendo necessários mais estudos para determinar outras características do canto que possam estar associadas à condição física.

Outro aspecto analisado nesta tese foi a resposta dos machos a estímulos de playback de conspecíficos que simulavam o canto alternado e sobreposto (capítulo 5), comum nesta espécie durante a época reprodutiva. Os resultados indicam um efeito semelhante nos dois estímulos, que parece ser a tentativa de evitar a sobreposição. No entanto, quando o canto dos indivíduos foi sobreposto com o estímulo simulado, a resposta indica uma diminuição do nível de agressão, uma vez que há um aumento dos intervalos inter-silábicos, o que, segundo Cardoso, Mota e Depraz (2007), é um sinal menos ameaçador.

Os resultados de diversas experiências com recurso a playbacks têm originado alguma controvérsia sobre o seu valor enquanto mensagem (Naguib e Mennill 2010, Searcy e Beecher 2011). No entanto, as diferenças gerais encontradas nas respostas entre os dois tratamentos pode ser uma evidência de que os machos variam o nível de ameaça quando passam de um padrão de alternância para um de sobreposição e vice-versa. Podemos

dizer que a resposta à sobreposição do playback parece ser, no caso da milheirinha, comparável ao efeito “*dear enemy*”, ao contrário do que acontece com outras espécies (Fisher 1954, Sprau et al. 2012, Temeles 1994). De uma maneira geral, os resultados aqui apresentados apoiam a teoria de que durante as interações ocorridas entre os machos o desvio vocal funciona como um sinal.

Finalmente, no capítulo 6, testámos a influência do ruído antropogénico nas características do canto, e registámos a existência de uma alteração do canto das milheirinhas ao nível da frequência mínima. Este factor tem como consequência marcar os sinais acústicos, imprescindíveis na reprodução e defesa de recursos, o que pode explicar os efeitos negativos em muitas espécies de aves canoras. De facto, já se verificou a redução do número de indivíduos de várias espécies em zonas onde se verificam elevados níveis de ruído antropogénico (Francis et al. 2009). Pelo contrário, algumas espécies parecem ter-se adaptado, através de alterações do canto que permitem superar o ruído, como é proposto pela hipótese da “*adaptação acústica*” (Morton 1975). O canto das milheirinhas apresenta uma elevada amplitude de frequência (8kHz), quando comparada com outras espécies do mesmo género (Mota e Cardoso, 2001). Nesta espécie não há grande plasticidade no uso de sílabas, nem mesmo entre anos, como realçámos no capítulo 3. No entanto, os resultados da análise do canto em diferentes condições de ruído revelam a capacidade dos machos para alterar as frequências das canções de maneira a reduzir os efeitos de degradação do sinal. Este comportamento pode indicar uma tendência desta espécie para se adaptar a ambientes urbanos.

Referências

- Beecher MD, Brenowitz EA. 2005. Functional aspects of song learning in songbirds. *Trends in Ecology & Evolution*. 20:143-149.
- Cardoso GC, Mota PG. 2004 Female serin (*Serinus serinus*) responses to song do not favour the predominant song syntax. *EtholEcolEvol*. 16:329-338.
- Cardoso GC, Mota PG. & Depraz V 2007: Female and male serins (*Serinus serinus*) respond differently to derived song traits. *Behav. Ecol. Sociobiol*. 61, 1425-1436.
- Fisher J 1954. Evolution and Bird Sociality. In: *Evolution as a Process* (Ed. by J. Huxley, A. C. Hardy & E. B. Ford), pp. 71-83. London: Allen and Unwin.
- Francis CD, Ortega CP, Cruz A. 2009. Noise pollution changes avian communities and species interactions. *Current Biology*. 19:1415-1419.
- Morton ES. 1975. Ecological sources of selection on avian sounds. *American Naturalist*. 109:17-34.
- Mota PG & Depraz V 2004: Male song affects female nesting behaviour in the Serin (*Serinus serinus*): a field playback experiment. *Ethology* 110, 841-850.
- Naguib M, Mennill DJ. 2010. The signal value of birdsong: empirical evidence suggests song overlapping is a signal. *Animal Behaviour*. 80:E11-E15.
- Searcy WA, Beecher MD. 2011. Continued scepticism that song overlapping is a signal. *Animal Behaviour*. 81:E1-E4.
- Senar JC, Copete JL. 1990. Survival and mean life span of Serin (*Serinus serinus*). *Bird Study*. 37:40-43.

Sprau P, Roth T, Amrhein V, Naguib M. 2012. Distance-dependent responses by eavesdroppers on neighbour estranger interactions in nightingales. *Animal Behaviour*. 83:961-968.

Temeles EJ. 1994. The role of neighbours in territorial systems: when are they 'dear enemies'? *Animal Behaviour*. 47:339-350.

