



DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Estudo do efeito da estrutura do canto das
Milheirinhas (*Serinus serinus*) na competição
entre os machos

Ana Teresa Ferreira Neves

2013



DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS DA VIDA

FACULDADE DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Estudo do efeito da estrutura do canto das Milheirinhas (*Serinus Serinus*) na competição entre os machos

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

Ana Teresa Ferreira Neves

2013

Agradecimentos

A realização deste trabalho não teria sido possível sem apoio e dedicação de todos aqueles que me acompanharam ao longo deste meu percurso na Universidade de Coimbra. A vocês queria deixar um especial obrigado.

Em primeiro lugar um especial agradecimento ao Professor Doutor Paulo Gama Mota, por me ter aceite como sua orientanda. Por toda a dedicação, confiança, motivação e por todos os ensinamentos ao longo destes dois anos. Um sincero muito obrigado.

A todos os professores do Mestrado em Ecologia um muito obrigada por todos ensinamentos.

Um especial agradecimento à malta do Laboratório de Etologia que ao longo desses dois anos foram essenciais...À Tê, Gonçalo, Caterina, Ely e um especial obrigado à Ana Leitão e Sandra Trigo por toda ajuda nos momentos de maior pânico, por todo incentivo e força. E claro à Joana por partilhar comigo os momentos de maior stresse ao longo deste ano.

Aos voluntários que me ajudaram ao longo de todo trabalho de campo...Márcia, Luiz, Ana Paula, Janine, Patrícia...Vocês foram essenciais!

À melhor turma do Mestrado de Ecologia, por todos os momentos que passamos ao longo destes dois anos...foi um prazer “trabalhar” com vocês.

Ao Joca e à Rita...a vocês que me acompanharam ao longo destes anos em Coimbra...pelas conversas, pelo apoio, pelo ânimo e especialmente por toda amizade ao longo destes 6 anos...um obrigado è pouco!

À Anne, por tudo neste último ano. Por sempre ter acreditado em mim e por ter estado sempre lá em todos os momentos. E claro pela ajuda nas formatações de última hora.

À Marta, João, Justin, Su, Lê, Janine, Manu, Mémé, Ágata Apesar de todos os cafés e jantares que faltei, por todas as vezes que disse que aparecia mas o cansaço falou mais alto.....Um muito obrigada por terem estado sempre presentes!

À minha Direção Geral da Associação Académica de Coimbra...um especial obrigado ao Ricardo Machado, Carmo, Magui e Pedro Matos por terem sido essenciais ao longo deste meu percurso em Coimbra.

À minha direção do Núcleo de Estudantes de Biologia um muito obrigada... vocês fizeram parte de um capítulo essencial neste meu percurso na Universidade de Coimbra.

Ao Asgdom, Rogério e Rahel...obrigado por todas as pausas para cafés ao longo dos infindáveis dias de escrita.

E por último e mais importante... Um muito obrigado à Belmira Neves e Jorge Neves...Pela “ausência” nestes últimos tempos, por toda a confiança depositada ao longo destes anos, por todo o apoio, amor, dedicação...um MUITO OBRIGADA! Sem vocês nada disto seria possível. Sem dúvida vocês são uns super-pais!

“The sexual struggle is of two kinds; in the one it is between individuals of the same sex, generally the males, in order to drive away or kill their rivals, the females remaining passive; whilst in the other, the struggle is likewise between the individuals of the same sex, in order to excite or charm those of the opposite sex, generally the females, which no longer remain passive, but select the more agreeable partners”.

Charles Darwin: The descent of man, and selection in relation to sex.1871

Índice

Agradecimentos	i
Índice	v
Resumo	vii
Abstract.....	ix
Capítulo 1 Introdução	1
1.1. Comunicação animal	1
1.2. Canto como forma de comunicação	2
1.3. Mecanismo fisiológico no canto das aves e o seu constrangimento físico	5
1.4. Seleção sexual e a função do canto.....	8
1.5. Funções intra e inter-sexual do canto	10
1.5.1. Funções inter-sexuais do canto.....	11
1.5.2. Funções intra-sexuais do canto.....	11
1.5.2.1. A importância dos trilos no sistema comunicacional	14
1.6. Espécie de estudo.....	16
1.7. Objetivos e Hipóteses de Trabalho	18
2.1. Local de estudo	23
2.2. Preparação dos estímulos.....	23
2.3. Desenho experimental	25
2.4. Análise das gravações	27
2.5. Análise estatística	28
Capítulo 3 Resultados	31
3.1. Resposta Comportamental.....	33
3.2. Resposta Vocal	35

Capítulo 4	Discussão	41
4.1.	Respostas vocais e comportamentais	43
4.1.1.	Resposta comportamental	44
4.1.2.	Resposta Vocal.....	45
4.2.	Considerações sobre o desenho experimental	48
4.3.	Trabalhos futuros	49
4.4.	Conclusões Finais	50
	Referências Bibliográficas	51
	Anexos	61

Resumo

Nas aves, o canto é um dos meios mais eficaz mas também complexo de comunicação entre os indivíduos, tendo recebido um vasto interesse científico nas últimas décadas. O canto das aves é um traço selecionado sexualmente, sendo um veículo de agressividade entre os machos. Segundo Searcy e Beecher (2009) são precisos três critérios para categorizar um sinal como agressivo: 1) Aumentar num contexto agressivo, 2) Provocar agressividade no emissor, 3) Provocar resposta no recetor.

Esta tese pretende testar, através de “playbacks” interativos, se os trilos presentes nas canções dos machos de Milheirinha (*Serinus serinus*) funcionam como um veículo de agressividade entre os machos. A Milheirinha é um pequeno passeriforme com um canto facilmente reconhecível pelas suas características, como a elevada rapidez e frequência. O seu canto encontra-se dividido em duas sintaxes diferentes, o modo repetitivo e sequencial. O modo repetitivo consiste na repetição da mesma sílaba um número invariável de vezes -Trilos- e o modo sequencial consiste na apresentação de sílabas diferentes numa ordem bem determinada.

Realizaram-se experiências em campo, com “playbacks” interativos em que se sobrepôs o canto dos machos com dois tipos de estímulos diferentes. Um estímulo com 8 trilos no início da canção e um estímulo sem trilos no início da canção. Num total de 40 indivíduos analisados, os nossos resultados mostraram que os indivíduos que foram sujeitos a canções com trilos aproximaram-se mais frequentemente da coluna, com uma menor latência e apresentaram uma posição de ameaça em 63,5% das situações. Também houve diferenças no comportamento de canto. Os indivíduos perante um “playback” com canções com trilos cantaram canções mais longas. Assim estes

resultados cumprem o segundo e o terceiro critério de Searcy e Beecher. O segundo critério é cumprido porque os indivíduos mostraram um comportamento de ameaça, aproximaram-se da coluna mais frequentemente e apresentaram uma menor latência de aproximação. O terceiro critério é satisfeito porque os indivíduos responderam ao “playback” de canções com trilos com canções mais longas.

Concluimos que os trilos presentes nas canções dos machos *Serinus serinus* são um sinal agressivo entre os machos, ficando demonstrado mais uma função de um traço do canto desta espécie.

Palavras-chave: Canto, *Serinus serinus*, “playbacks” interativos, trilos, agressividade

Abstract

In birds, singing is one of the most effective, but also complex, means of communication between individuals, having received vast scientific interest in the last decades. Bird songs are a sexually selected trait, being a vehicle of aggressiveness between males. According to Searcy and Beecher (2009) three criteria are needed to categorize a signal as aggressive: 1) use in aggressive contexts, 2) predicting aggression, and 3) receiver response.

This thesis aims to test, through interactive playbacks, if the trills present in the songs of serin (*Serinus serinus*) males function as a vehicle of aggressiveness between males. The serin is a small passerine with an easily recognizable song by its characteristics, like the elevated speed and frequency. Their song is divided into two different syntaxes - repetitive and sequential. The repetitive mode consists of the same syllable being repeated an invariable number of times - Trills - and the sequential mode consists of a display of different syllables in a well determined order.

The field experiments were implemented with interactive playbacks that overlapped the males' songs with two different types of stimuli. A stimulus with eight trills in the beginning of a song and a stimulus without trills in the beginning of a song. Out of the 40 individuals that were analyzed in total, our results showed that the individuals that were subjected to the songs with trills approached the column more frequently, with less latency and displayed a threat position in 63,5% of the situations. Also, there were differences in the behavior of the song. The individuals during the playback, in response to the stimulus with trills, increased the duration of their songs. So, the results meet the second and third criteria of Searcy and Beecher. The second criterion is met because the individuals showed a threat behavior, approached the

column more frequently and had lower approach latency. The third criterion is satisfied because the individuals responded to the playback of the songs with trills with longer songs.

We conclude that the trills present in the male *Serinus serinus* songs are an aggressive signal between males, demonstrating more the function of the trait of the species' song trait.

Keywords: Singing, *Serinus serinus*, interactive playbacks, trills, aggressiveness.

Capítulo 1

Introdução

Capítulo 1

1.1. Comunicação animal

A comunicação entre os animais é fulcral para a existência de uma ampla gama de comportamentos associados à interação social dos indivíduos, como por exemplo, o comportamento de escolha de par, competição por recursos, defesa de território (Todt e Naguib 2000) reconhecimento individual, proteção contra os predadores e estabelecimento de hierarquias (Catchpole e Slater 1995) sendo essencial para compreender a própria ecologia da espécie (Bradbury e Vehrencamp 1988).

Num sistema de comunicação o veículo no qual está inserida a informação é chamado sinal (Bradbury e Vehrencamp 1988). Por sinal entendemos as características comportamentais, fisiológicas ou morfológicas principais que foram mantidas por seleção natural de forma que a sua exibição traga benefícios para o portador sendo a característica transmitida para outros indivíduos (Searcy e Nowick 2005). Conclui-se assim que estamos perante uma comunicação quando o sinal emitido pelo emissor não é acidental e traz benefícios para este e também quando se visualiza concretamente uma mudança comportamental por parte tanto do emissor como do recetor (Catchpole e Slater 1995). Contrariamente aos sinais intencionais, referidos anteriormente, existem sinais cuja perceção destes pelo recetor não traz qualquer benefício para o emissor sendo estes sinais chamados de pistas (Bradbury e Vehrencamp 1988).

Existem vários canais em que a informação pode ser transmitida, sendo que a maioria dos animais comunica através de uma combinação de sinais visuais, químicos e acústicos (Marler e Slabbekorn 2004). Os sinais visuais são dos mais perceptíveis devido aos padrões, às cores e até aos displays comportamentais que os indivíduos poderão exibir. A grande parte dos sinais químicos são usados na defesa de território como podemos verificar no exemplo dos coiotes que defecam sempre nos mesmos locais e no cão doméstico que urina essencialmente nos postes e troncos de árvores. Por outro lado,

os sinais acústicos permitem os indivíduos comunicar a quilómetros de distância como no caso dos elefantes que ao produzirem sons graves podem comunicar ao longo de vários quilómetros e o caso das baleias que exploram o facto do som no oceano se propagar facilmente de forma a conseguirem comunicar ao longo de centenas de quilómetros (Marler e Slabbekorn 2004). Assim, o som proveniente dos sinais acústicos propaga-se a longas distâncias, ultrapassa barreiras físicas e pode ser usado em qualquer altura do dia, sendo um sistema bastante vantajoso (Catchpole e Slater 1995).

1.2. Canto como forma de comunicação

Os sinais acústicos constituem um complexo sistema de comunicação e são produzidos por inúmeros taxa, como por exemplo rãs e insetos (Searcy e Andersson 1986).

O sistema vocal nas aves tem recebido um grande interesse científico nas últimas décadas (Catchpole e Slater 1995; Marler e Slabbekorn 2004; Podos, Huber et al. 2004) sendo um modelo bastante estudado em comportamento animal uma vez que ilustra a complementaridade que existe entre as influências genéticas e as influências de aprendizagem no processo de desenvolvimento do canto (Podos, Huber et al. 2004). Também tem sido um modelo de estudo comum para entender a comunicação vocal nos humanos (Brainard e Doupe 2002).

Assim, o canto funciona como um sinal que vai servir como veículo de comunicação entre indivíduos da mesma espécie, transmitindo inúmeras informações sobre os mais variadíssimos aspetos, como a identidade da espécie, a origem, o estado motivacional e a sua situação reprodutiva (Catchpole e Slater 1995; Mennil e Ratcliffe 2004).

Capítulo 1

Sendo assim, torna-se necessário compreender quais as propriedades inerentes ao canto. O som proveniente do canto é produzido devido à colisão de moléculas que se encontram num meio como um líquido, um gás ou um sólido (Bradbury e Vehrencamp 1988). O som proveniente do canto propaga-se através de uma massa de ar em que a velocidade de propagação depende da temperatura, da pressão e da resistência acústica do meio envolvente (Bradbury e Vehrencamp 1988).

Do ponto de vista terminológico, o canto de uma ave encontra-se dividido em canções, canções essas que se encontram divididas em frases, sendo as frases formadas por sílabas estando estas divididas em elementos, que é a unidade mais pequena do som (Figura 1) (Catchpole e Slater 1995), sendo as canções das espécies identificadas através da estrutura da própria canção que varia de espécie para espécie (Todt e Naguib 2000).

As vocalizações das aves podem ser divididas em canções e chamamentos (“calls”). As canções tendem a ser mais longas e complexas sendo estas produzidas essencialmente pelos machos na época reprodutiva (Catchpole e Slater 1995). Esta distinção por vezes não é assim tão linear especialmente com espécies oriundas da zona dos trópicos, sendo que nestes casos as fêmeas cantam tal como os machos e durante todo ano, não estando restrito apenas à época reprodutiva. Os chamamentos são mais curtos e simples, produzidos por ambos os sexos ao longo de todo o ano, ocorrendo essencialmente em contextos específicos como situações de alarme (Catchpole e Slater 1995).

Em certas espécies o repertório de canções está organizado à volta de um limite de canções, isto é, canções tipo com pouca variação, como o caso do Tordo-ruivo (*Turdus iliacus*) e do “white-crowned sparrow” (*Zonotrichia leucophrys*). Contudo, outras espécies apresentam um repertório com elevado número de sílabas que

combinam de forma livre, podendo cada ave produzir um número quase ilimitado de canções diferentes, como por exemplo o Melro-preto (*Turdus merula*) e a Felosa-dos-juncos (*Acrocephalus schoenobaenus*) (Catchpole e Slater 1995). Por outro lado, podemos ter o repertório relativamente às sílabas, quando o número de sílabas é combinado de modo a que componham novas canções (Marler e Slabbekorn 2004).

As canções podem ser aprendidas pelo indivíduo ou ser inatas a este. O canto inato é normalmente estereotipado, simples e determinado geneticamente sendo este específico de não passeriformes ou suboscíneos (Slater 1997). Por outro lado, as canções em passeriformes oscíneos apresentam variação regional e individual, evidenciado a apreensão e memorização de elementos na canção (Kroodsma e Byers 1991). A aprendizagem das canções pode ocorrer em diversos momentos, durante as primeiras semanas de vida do indivíduo. Sendo assim, uma boa aprendizagem e memorização das canções independentemente de todo o stresse ambiental a que o indivíduo está sujeito pode ser um indicador da qualidade genética deste (Buchanan 2000). Contudo, a aprendizagem não ocorre sempre nas primeiras semanas de vida, existindo indivíduos que podem modificar as suas canções em adulto (Kipper e Kiefer 2010).

Uma das formas mais utilizadas para estudar a comunicação acústica nas aves é através da realização de experiências com “playbacks” interativos (McGregor, Catchpole et al. 1992; McGregor, Dabelsteen et al. 1992). Ao recorrer ao uso de “playbacks” interativos é possível manipular a estrutura do sinal que está a ser enviado ao recetor (indivíduo), sendo possível ver quais os parâmetros do canto se encontram correlacionados com certos comportamentos (Slater 1997). Por exemplo, em Chapins-reais (*Parus major*) demonstrou-se que o “playback” interativo simula a invasão de um

Capítulo 1

indivíduo num território, tendo o macho exibido comportamentos de defesa de território quando confrontado com o “playback” (Langemann, Tavares et al. 2000).

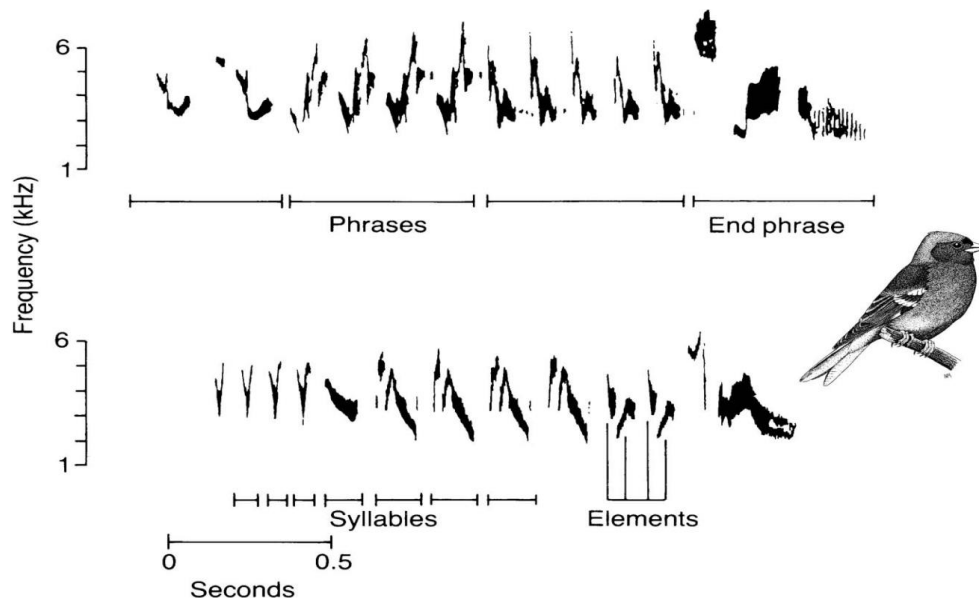


Figura 1. Esquema representativo das componentes de uma canção (Catchpole e Slater 1995).

1.3. Mecanismo fisiológico no canto das aves e o seu constrangimento físico

A ação de cantar por parte das aves para além de exigir uma complexa rede motora subjacente também exige a presença de uma rede cerebral complexa de forma a existir coordenação entre os mecanismos vocais e respiratórios (Vehrencamp, Yantachka et al. 2012). Assim, a ação de cantar envolve um conjunto de movimentos musculares sincronizados, movimentos que implicam um certo gasto de energia, sendo que os machos cantam mais quando a temperatura a que estão sujeitos é mais elevada e quando têm ao seu dispor uma maior quantidade de alimento (Gil e Gahr 2002).

A siringe é o órgão responsável pela produção do som nas aves, que é equivalente nos humanos à laringe (Marler e Slabbekorn 2004). O custo neurológico na

produção do canto é um dos assuntos mais estudados no que diz respeito ao sistema comunicacional das aves. A rede cerebral do canto das aves é constituída por vias interligadas, a via posterior que consiste em 4 núcleos cerebrais – HVC, RA, NIf e AV-, e a via anterior que consiste em 2 áreas – X e LMAN – que estão conectadas indiretamente através do núcleo dorsolateral do tálamo – DLM - sendo que esta via está associada à aprendizagem do canto enquanto a via posterior está associada à produção do canto (Catchpole e Slater 1995). Para além da função de aprendizagem, a via anterior controla também a frequência e amplitude do canto. Verificou-se que existe uma relação entre os núcleos cerebrais -HVC e RA- e tamanho do repertório das canções e durações destas, isto é, repertórios maiores e canções de maior duração correspondem a um maior volume destes dois núcleos cerebrais (Garamszegi e Eens 2004). Os núcleos HVC e RA dos Canários (*Serinus canaria*) e Mandarins (*Taeniopygia guttata*) machos são três vezes maiores quando comparados com os das suas fêmeas (Nottebohm e Arnold 1976).

Certas sílabas presentes nas canções são mais difíceis de produzir, sendo necessário para isso uma coordenação especial dos mecanismos de respiração. O indivíduo para produzir sílabas agudas necessita de uma maior contração dos músculos da siringe (Gil e Gahr 2002). Por outro lado, para produzir sílabas a um volume mais alto necessita de uma maior contração da zona abdominal enquanto para produzir uma sucessão rápida de sílabas o indivíduo necessita de realizar mini inspirações durante a canção, o que vai dificultar a manutenção de canções longas e ininterruptas (Suthers e Goller 1997).

Como referido a cima, existem sílabas que apresentam um grau de dificuldade maior na sua produção quando comparadas com outras. Logo, de forma a entender a evolução dos sistemas de comunicação, é necessário considerar várias forças seletivas e de constrangimento que atuam não só na produção como também na transmissão e na

Capítulo 1

deteção do sinal (Ryan e Brenowitz 1985). Traços comportamentais, tal como o canto, encontram-se limitados por restrições físicas por parte do indivíduo (Podos, Huber et al. 2004). Verificou-se que quando os machos de “swamp sparrow” (*Melospiza georgiana*) tentavam reproduzir uma canção com uma taxa de repetição silábica acima do normal, observava-se que nalguns indivíduos as canções reproduzidas eram deficientes na taxa silábica e noutros ocorria uma quebra na sintaxe da canção, verificando-se assim uma restrição física relativamente a valores mais elevados na taxa de repetição silábica (Podos 1996). Nos machos de Chapins-reais verificou-se que o estereótipo das notas do seu repertório “Song Frequency Plasticity” diminui com o aumento da taxa de trilos (Lambrechts 1997). Em 34 espécies de Passeriformes (*Emberizidea*) foi encontrada uma relação negativa entre a taxa de trilos (secção da canção que consiste na repetição das mesmas sílabas de uma forma rápida e sucessiva) e a banda de frequência (Podos 1997), em que a frequência ia diminuindo com o aumento da taxa silábica mostrando que existem constrangimentos no trato vocal durante a produção destas sílabas. Assim, é expectável que numa canção os valores da taxa de trilos e da banda de frequência se inscrevam num triângulo em que o lado representa um limite de performance, uma vez que não há indivíduos com taxas elevadas e amplitude elevadas ao mesmo tempo (Figura 2), sendo esse triângulo conhecido como o triângulo de Podos. Nos Tentilhões de Darwin (Podos 2001) observou-se que a evolução da morfologia do bico afetava o trato vocal do indivíduo e desta forma a capacidade destes de modularem as suas canções. Os indivíduos com um bico maior apresentavam uma repetição silábica e frequências mais baixas. Por outro lado, verificou-se que existe uma restrição a nível do tamanho de corpo do indivíduo uma vez que este varia negativamente com a frequência das vocalizações (Patel, Mulder et al. 2010), contudo um outro estudo mostrou que em duas espécies oscíneos, a Milheirinha (*Serinus*

serinus) e “dark-eyed-junco” (*Junco hyemalis*), que a frequência das canções não se encontra relacionada com o tamanho corporal do indivíduo (Cardoso, Mamede et al. 2008). Desta forma, normalmente não há qualquer relação entre as frequências das canções e tamanho do indivíduo, exceto quando comparamos grupos de aves diferentes, como o caso da Melro-preto e da Toutinegra-de-cabeça-preta (*Sylvia melanocephela*).

Desta forma, os exemplos acima descritos demonstram que existem constrangimentos físicos no sistema vocal das aves.

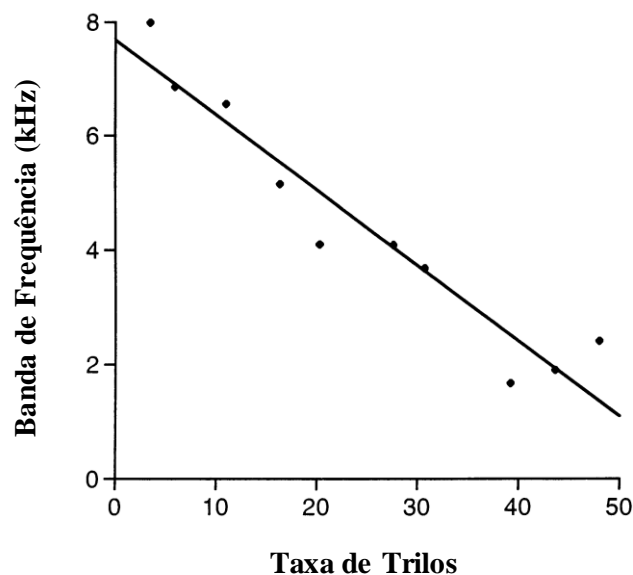


Figura 2. Imagem representativa do triângulo de Podos (Podos 1997)

1.4. Seleção sexual e a função do canto

Darwin definiu que os machos apresentam características competitivas diferentes com o objetivo de obterem um melhor sucesso reprodutivo que o seu rival. Assim, a seleção sexual atribui a evolução de armamentos à seleção intra-sexual e a evolução de ornamentos à seleção inter-sexual (Darwin 1871).

A seleção inter-sexual descreve a preferência das fêmeas por traços masculinos sendo que essa preferência acarreta custos. Fisher (1930) propôs que a escolha por uma

Capítulo 1

determinada característica do ornamento ao longo de gerações reforce o valor dessa característica, mecanismo que ficou conhecido por Seleção Sexual de Runaway ou Seleção sexual Fisheriana (Andersson 1994). Por outro lado, a qualidade da característica do indivíduo é medida pelo seu custo – Princípio do Handicap, isto é, a produção de uma característica ou sinal de alta qualidade está dependente de quanto o indivíduo consegue tolerar os níveis de custo. Desta forma, uma vez que custo do sinal pode refletir a boa condição física e motivacional do indivíduo, a escolha por parte das fêmeas, de determinadas características origina pressões seletivas numa determinada direção em relação aos fenótipos dos machos (Zahavi 1977). Assim sendo, quando o emissor e o recetor têm diferentes interesses é necessário que a troca de sinais entre ambos apresente custos elevados de forma a garantir a honestidade e a qualidade dos sinais (Andersson 1994; Searcy e Nowick 2005).

No que diz respeito aos mecanismos intra-sexuais as características que mais evoluem por estes mecanismos são as armas de combate e que são geralmente reveladoras da capacidade competitiva dos machos. Este tipo de seleção acontece em interações macho-macho (Andersson 1994). Com o objetivo de melhor compreender os mecanismos intra-sexuais foram realizados estudos nos mais diversos taxa como insetos, mamíferos e aves. Sendo que os sinais de agressividade nas interações macho-macho variam largamente de espécie para espécie e de sinal para sinal, é importante perceber de que forma a comunicação em interações entre machos serve como veículo de um sinal agressivo que permita aos recetores percecionarem um possível ataque por parte do emissor. É importante saber de que a forma a seleção natural ou a seleção sexual modelaram a evolução dos sinais contendo a informação específica que é usada em conflitos entre machos. Os sinais de agressividade podem refletir as próprias características do indivíduo, como tamanho corporal, força e coordenação (McEvoy,

While et. al. 2013), existindo duas categorias de sinal. O “free strategic signal“ é viável para todos os emissores/sinalizadores tendo custos inerentes independentes da resposta do recetor e o “performance signal” que apenas é viável para alguns dos emissores uma vez que existe uma constrição física, havendo desta forma uma restrição de informação tendo apenas alguns emissores a capacidade necessária para produzir o sinal (Searcy e Beecher 2009). De salientar, que dentro dos “free strategic signal” existem diferentes níveis de variação do sinal conforme o sinalizador “classic handicaps”, mas também existem casos em que os custos estão dependentes da resposta dada pelo recetor “conventional signal”, sendo que muitos sinais podem transmitir a mesma mensagem (Marler e Slabbekorn 2004). Desta forma, um dos grandes desafios no mundo da comunicação animal é entender de que maneira a comunicação pode funcionar como veículo de agressividade nas interações macho-macho (Searcy, Anderson et al. 2006).

1.5. Funções intra e inter-sexual do canto

O canto nas aves está estreitamente ligado à seleção sexual, sendo aceite que a escolha do par por parte das fêmeas e as interações entre machos influencia a evolução do canto (Searcy e Andersson 1986). As características do canto variam de espécie para espécie. Parâmetros como a duração das canções, amplitude, frequência, intervalo entre canções e taxa de trilos podem ser selecionados sexualmente (Marler e Slabbekorn 2004), sendo uma via bastante simples para comparar a qualidade individual de machos coespecíficos. Assim, a variação individual destas características do canto afeta o sucesso reprodutivo, não só no que diz respeito à escolha por parte da fêmea (seleção inter-sexual) como na interação macho-macho (seleção intra-sexual) (Searcy e Andersson 1986; Gil e Gahr 2002).

Capítulo 1

1.5.1. Funções inter-sexuais do canto

As funções inter-sexuais do canto dizem respeito à atração da fêmea e a estimulação reprodutiva desta (Andersson 1994). Em laboratório mostrou-se que as fêmeas de “white-crowned sparrow” preferem machos com uma elevada taxa de canto, com canções mais longas e com um repertório maior. Por outro lado, as fêmeas de canário preferem os machos que apresentem uma taxa de trilos mais rápidos nas canções (Gil e Gahr 2002). Os machos de Felosa-dos-juncos ao exibirem repertórios maiores atraem mais parceiros antes da época reprodutiva do que os machos que possuam repertórios menores (Catchpole e Slater 1995). Os machos de Canários ao cantarem a frase A do seu repertório, que consiste na repetição de um bloco de duas sílabas, provocam um aumento de displays sexuais (solicitação de cópula) por parte das fêmeas (Vallet e Kreutzer 1995; Vallet, Beme et al. 1998). Um estudo mostrou que as fêmeas de Milheirinha preferem machos que cantam a frequências mais elevadas (Cardoso, Mota et al. 2007).

1.5.2. Funções intra-sexuais do canto

As funções intra-sexuais do canto dizem respeito à competição por território, recursos e ao estabelecimento de hierarquias de dominância, (Andersson 1994). Para entender de que forma a comunicação entre machos serve como um veículo de agressividade, Searcy e Beecher (2009) definiram três critérios necessários para categorizar um sinal como agressivo. Primeiro o sinal tem que aumentar perante um contexto agressivo. Segundo, o sinal tem que provocar um aumento de agressividade por parte do emissor (perspectiva do emissor). Por último, é necessário que o recetor responda ao sinal (perspectiva do recetor). Desta forma, de acordo com estes critérios existem cinco comportamentos de canto que parecem constituir sinais de agressividade:

“song type matching”, “frequency matching”, “song overlapping”, “song type switching” e “low amplitude song”.

O “song type matching” é um comportamento em que o indivíduo reproduz o mesmo canto de outra ave sendo esse comportamento apenas possível quando os reportórios são similares aos das outras aves. Este comportamento é observado em interações naturais nos machos de “banded wren” (*Thryophilus pleurostictus*) (Burt e Vehrencamp 2005) e nos machos de “black-capped chickadee” (*Poecile atricapillus*) (Gammon, Hendrick et al. 2008). Os Chapins-reais machos (Krebs, Ashcroft et al. 1981) e os machos de “song sparrow” (*Melospiza melodia*) (Stoddard, Kroodsma et al. 1996) apresentaram este tipo comportamento, como resposta a “playbacks”.

A “frequency matching” é um comportamento em que ave ajusta a sua frequência (pico) de modo assemelhar-se ao canto do outro indivíduo, ou seja, ao seu rival. Como resposta a um “playback” de alta frequência os machos de “kentucky warbler” (*Geothlypis formos*) ajustaram a frequência da sua canção de modo aproximar-se da frequência do “playback” (Morton e Young 1986). Em “black-capped chickadee” foi encontrada uma relação positiva entre a frequência do “playback” e a frequência das canções do indivíduo (Horn, Leonard et al. 1992).

O “low song amplitude” é quando as canções dos indivíduos são cantadas a uma amplitude mais baixa do que o normal, sendo essas canções denominadas de “soft songs”. Os machos de “song sparrow” exibiram este comportamento quando foram confrontados com um “playback” das suas canções no seu território (Nice 1943). Em machos de “brown-flanked bush warbler” (*Cetia fortipes*) verificou-se que quando lhes foi apresentado um “playback” de canções de baixa amplitude estes mostram um comportamento agressivo (Xia, Liu et al. 2013).

Capítulo 1

O “song type switching” refere-se à frequência, isto é, o número de vezes por unidade de tempo que o indivíduo muda a sua canção tipo. Em resposta a um “playback” territorial os machos de “song sparrow” aumentaram o número de vezes que mudaram o tipo de canção (Searcy et al. 2000). Também em “western meadowlark” (*Sturnella neglecta*) observou-se que existe um aumento deste comportamento em contextos agressivos (Horn e Falls 1991).

O “song overlapping” é um comportamento em que um indivíduo começa a cantar quando o seu opositor (outro macho) está a meio da sua canção, isto é, ocorre uma sobreposição de canto, sendo necessário ter em conta que essa sobreposição pode ocorrer ao acaso e não com o intuito de real sobreposição e assim transmitir um sinal agressivo (Searcy e Beecher 2009). Assim, existe ceticismo relativamente ao comportamento de sobreposição de canto, sendo este um assunto bastante debatido (Searcy e Beecher 2010). Este comportamento de canto pode ocorrer de diferentes formas. Pode ser um fenómeno ao acaso, isto é, quando dois indivíduos cantam a taxas de canto diferentes o canto de ambos pode coincidir; quando um indivíduo não prevê corretamente o final da canção do outro indivíduo e inicia demasiado cedo a sua canção; quando devido a limitações do espaço acústico, muitos indivíduos ao cantarem num espaço relativamente reduzido pode ocorrer a sobreposição do canto. A sobreposição de canto para além de poder ocorrer acidentalmente como referido anteriormente pode ser um comportamento intencional, quando o indivíduo ajusta intencionalmente o tempo de começar a sua canção de modo a coincidir com o canto do oponente (Naguib e Mennill 2010). Assim, muitos dos estudos sobre a sobreposição focam-se no comportamento intencional do indivíduo recorrendo para isso a sistemas de “playbacks” interativos. Em “black-capped chickadee” os indivíduos que sofreram sobreposição de canto cantaram canções com menor duração mas por outro lado mudaram com uma maior frequência a

canção tipo, ou seja, mostraram um maior comportamento de “song type switching” do que aqueles indivíduos que não sofreram sobreposição de canto (Mennill e Ratcliffe 2004). Em “banded wren” os machos cantaram canções mais curtas e diminuíram a variabilidade do tamanho das canções quando sujeitos a um desafio de sobreposição de canto (Hall, Iles et al. 2006). Um estudo com os machos de Milheirinha mostrou que quando os indivíduos foram sujeitos a um “playback” de sobreposição de canto estes se aproximaram da coluna e aumentaram a taxa silábica. Assim, para esta espécie um aumento da taxa silábica está associada a contextos agressivos (Funghi et. al. 2013 submetido à *Animal Behaviour*).

1.5.2.1. A importância dos trilos no sistema comunicacional

Devido à importância que o comportamento de sobreposição de canto tem nas interações entre machos é importante saber qual a mensagem transmitida por cada parâmetro do canto.

Assim, inúmeros estudos têm-se focado na questão da importância dos trilos de uma canção no sistema comunicacional de uma espécie quando se verifica uma interação macho-macho. Os trilos, como referido anteriormente, são uma secção da canção que consiste na repetição das mesmas sílabas de uma forma rápida e sucessiva. A produção deste tipo de notas envolve um tradeoff físico, isto é, existe um constrangimento físico entre a rapidez da produção destas sílabas e a frequência a que estas são emitidas, porque a produção repetitiva de notas requer uma coordenação precisa entre o movimento do trato vocal e o fluxo de ar (Ballentine, Hyman et al. 2004). Desta forma, a produção de trilos quase no limite pode ser um fator de escolha por parte das fêmeas, porque revela a qualidade por parte do macho (Vallet, Beme et. al. 1998; Cramer 2012). Nos Rouxinóis (*Luscinia megarhynchos*) foi investigada a

Capítulo 1

hipótese de a capacidade competitiva dos machos ser baseada no uso e na performance rápida na sucessão de trilos presente nas canções. Mas neste caso verifica-se que os trilos são um sinal agressivo, uma vez que os indivíduos se aproximaram mais da coluna que reproduzia o “playback” com trilos e também cantavam mais junto dessas (Schmidt, Kunc et al. 2008). Os machos de “banded wren” aproximaram-se primeiro da coluna que reproduzia o “playback” com trilos numa banda mais rápida. Contudo, estes passavam menos tempo junto dessa coluna o que sugere que os trilos numa banda mais rápida são um sinal ameaçador para esta espécie (Iles, Hall et al. 2006). Nos machos de Rola-turca (*Streptopelia decaocto*), verificou-se que aqueles que foram sujeitos a “playbacks” com canções com mais trilos tinham uma menor latência de voo para a coluna, quando comparado com os indivíduos sujeitos a playbacks de canções sem trilos. Observou-se também que dentro do grupo de indivíduos que foram sujeitos a “playbacks” de canções com trilos que estes apresentavam uma variabilidade na latência de voo conforme o número de trilos presente no “playback” (Secondi, den Hartog et al. 2003). Um outro estudo com Rouxinóis mostrou que os machos que foram sujeitos a um “playback” com trilos cantavam mais do que aqueles que foram sujeitos ao outro “playback” de canções sem trilos (Sprau, Schmidt et al. 2010). Um outro estudo feito nos machos de “banded wren” focou se apenas nos trilos da canção e verificou-se que a taxa de trilos do indivíduo aumentou quando este foi confrontado com um “playback” (Vehrencamp, Yantachka et al. 2012). Em Milheirinhas observou-se que, apesar não serem trilos, que a aceleração das canções originou um comportamento de evitamento nos machos (Cardoso et al. 2007).

1.6. Espécie de estudo

O *Serinus serinus* (Linnaeus, 1766) conhecido por Milheirinha é um pequeno passeriforme da família *Fringillidae*, nativa das florestas abertas da Europa do Sul. Atualmente é comum em toda a Europa meridional (Mota 1999), sendo por isso considerada uma espécie Pouco Preocupante de acordo com o Livro Vermelho das espécies ameaçadas. Esta espécie habita tanto em áreas abertas como espaços de cultivo (Oliveiras e Sobreiros), sendo que atualmente começam a habitar áreas urbanas (Mota 1995), tendo uma distribuição muito alargada em Portugal. A sua dieta é essencialmente à base de sementes e rebentos de gramíneas e outras pequenas plantas hortícolas. Por vezes alimentam-se de pequenos invertebrados (Cramp 1994). Fisicamente é uma ave pequena, com um bico curto possuindo asas longas e apresenta um dimorfismo sexual ao longo da plumagem (Cramp 1994). Os machos apresentam uma cor mais amarela na zona abdominal do que as fêmeas sendo que estas na zona ventral apresentam umas riscas acastanhadas (Cramp 1994). A cor amarela dos machos resultante da incorporação de carotenoides nas penas durante a muda é sexualmente selecionada pelas fêmeas (Leitão et al. 2013 aceite na Behavioral Ecology and Sociobiology).

Esta é uma espécie monogâmica, em que a ligação entre o macho e a fêmea não dura mais de que uma época reprodutiva. É uma espécie gregária em que o período de reprodução e nidificação ocorre entre finais de Fevereiro e inícios de Julho, sendo que se podem reproduzir aos pares isolados ou com outros pares em grande proximidade (Cardoso e Mota 2004).

O canto da Milheirinha é um canto bastante peculiar, sendo constituído por reportórios que variam entre as 40 e 87 sílabas (Mamede e Mota 2012), que são cantadas a uma taxa bastante elevada e de numa forma bastante estereotipada. A canção desta espécie tem uma frequência bastante elevada quando comparada com o seu

Capítulo 1

tamanho corporal, isto é, a Milheirinha canta a uma frequência máxima de 11,2 kHz com uma frequência média de 6.30 kHz (Mota e Cardoso 2001) sendo que de acordo com a regressão de Wallshalager é previsto uma frequência média de 4 kHz para uma espécie com a massa corporal da Milheirinha (Wallschlager 1990). Também a canção da Milheirinha apresenta frequências mais elevadas quando comparada com outras espécies do mesmo género (Cardoso e Mota 2009).

As sílabas estão organizadas numa estrutura circular, existindo pouca variação dentro da canção, sendo que possivelmente a estrutura circular da canção é uma adaptação que permite ao indivíduo cantar canções mais longas do que a própria duração do repertório ou então devido a regras inerentes a esta espécie. Na canção desta espécie são observadas duas sintaxes, designadas como o modo repetitivo e o modo sequencial. O modo repetitivo, de uma forma geral, consiste na repetição da mesma sílaba um número invariável de vezes, sendo essas sílabas denominadas trilos que aparecem tanto no meio como no início da canção. A segunda sintaxe da canção é a sintaxe sequencial que consiste na apresentação de sílabas diferentes numa ordem bem determinada, sendo essa sintaxe a mais predominante na canção (Mota e Cardoso 2001) (Figura 3).

Relativamente às funções do canto desta espécie, sabe-se que o canto do macho estimula a fêmea de forma a ela construir o ninho mais rapidamente (Mota e Depraz 2004). Outra função do canto do macho é a defesa de par, ou seja, o canto produzido durante o voo têm o objetivo de defesa do par (Mota 1999). Nesta espécie o comportamento da fêmea indica que estas preferem canções com frequências mais elevadas (Cardoso et. al 2007). Nas interações entre machos verificou-se que aceleração silábica funcionava como um veículo de agressividade (Funghi et. al. 2013 submetido à

Animal Behaviour). Um outro estudo mostrou que canções mais rápidas representam um sinal agonístico para os machos desta espécie (Cardoso et al. 2007).

Sabendo que em muitos oscíneos o tamanho do repertório se encontra correlacionado com a idade (de Kort, Eldemire et al. 2009), foi estudado se a canção da Milheirinha mudava conforme a idade. Verificou-se que o canto da Milheirinha apresenta uma plasticidade vocal limitada quando relacionada com a idade após o primeiro ano (Mamede e Mota 2012).

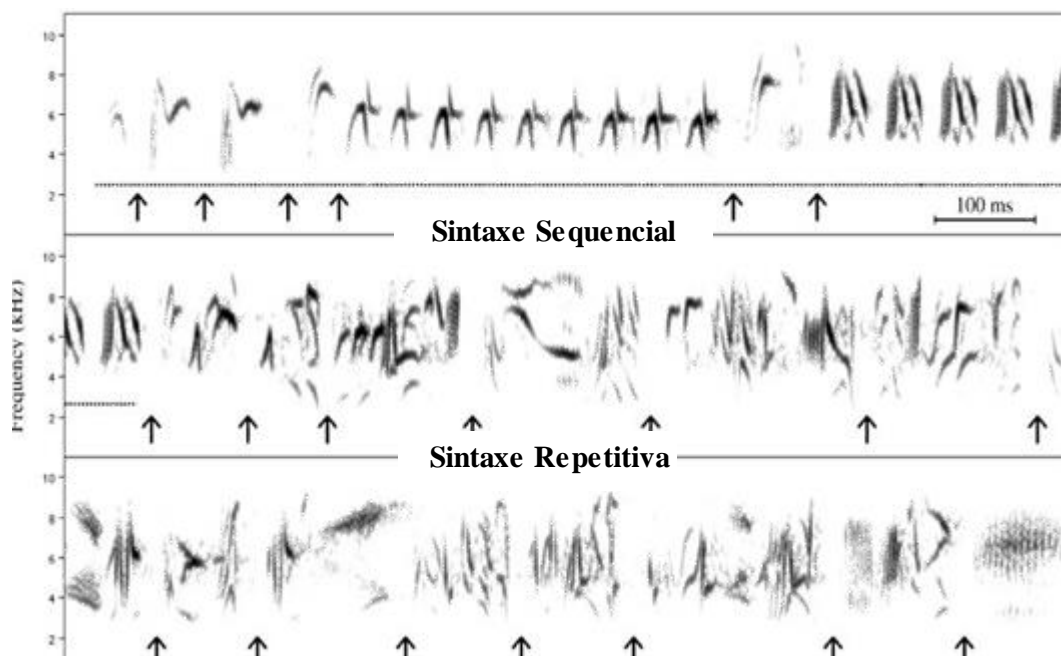


Figura 3. Espectrograma representativo do canto da Milheirinha (Mota e Cardoso 2001).

1.7. Objetivos e Hipóteses de Trabalho

Este trabalho de investigação tem como o principal objetivo determinar se os trilos presentes nas canções dos machos funcionam com um sinal agressivo entre os machos *Serinus serinus*.

Capítulo 1

Em primeiro lugar, o facto de existirem machos que cantam canções com trilos e sem trilos remete-nos para um possível significado dos trilos no sistema comunicacional desta espécie. Também o facto dos machos de *Serinus serinus* quando confrontados com um desafio de sobreposição de canto responderem com um aumento da taxa silábica e sendo os trilos uma aceleração silábica, levou-nos a elaborar um desenho experimental que nos permitisse testar, qual a resposta dos machos quando sobrepostos o seu canto com uma canção com trilos. Este trabalho foi também suportado por outros estudos em diferentes espécies que mostraram que os trilos são um elemento importante no sistema comunicacional. Assim, formulámos as hipóteses de que os trilos aumentam num contexto agressivo, provocam maior agressividade no indivíduo e existe uma resposta agressiva do macho perante a presença de trilos.

Desta forma, decidimos testar as seguintes hipóteses que aqui se apresentam mais formalmente:

1º: Quando estimulados com os trilos, os machos alteram algum dos parâmetros de canto, em resposta ao desafio provocado por um playback interativo com sobreposição?

2º: Os machos respondem mais agressivamente às canções com trilos, aproximando-se mais e mais rapidamente à coluna que reproduz o estímulo?

3º: Os machos exibem mais comportamentos de ameaça perante os estímulos com trilos?

Capítulo 2

Materiais e Métodos

Capítulo 2

2.1. Local de estudo

As experiências foram realizadas durante os meses de Março e Abril de 2013 entre as 07.30h e as 14:00h em várias áreas no centro de Coimbra, Portugal e em zonas suburbanas de Coimbra, Portugal. Mais especificamente os dados foram recolhidos em zonas suburbanas como Pereira (40°10'48.15"N-8°35'2.63"W) e Lordemão (40°14'16.15"N-8°24'32.78"W) e em zonas mais urbanas no centro de Coimbra, como Mata Nacional do Choupal (40°13'1.24"N-8°26'24.42"W), Jardim Botânico (40°12'17.04"N-8°25'16.70"W), Jardim da Sereia (40°12'34.30"N-8°25'3.62"W), Escola Superior Agrária de Coimbra (40°12'49.30"N-8°27'6.92"W), Planalto de Santa Clara (40°12'36.12"N-8°26'29.15"W), Parque da Cidade (40°12'11.72"N-8°25'36.49"W) e Polo I da Universidade de Coimbra (40°12'28.62"N-8°25'26.30"W).

Dentro da mesma área de estudo os indivíduos foram gravados em pontos diferentes de forma a evitar gravar o mesmo indivíduo duas vezes. Através da visualização do espectrograma do canto de cada indivíduo conseguimos fazer uma identificação individual (Mota e Cardoso 2001).

2.2. Preparação dos estímulos

Os estímulos foram produzidos através de canções de Milheirinha gravadas em anos anteriores em zonas suburbanas de Coimbra como Arzila (40°11'0.04"N-8°33'4.99"W), Anobra (40°8'54.72"N-8°31'41.00"W), Rapoila (40°8'22.39"N-8°33'8.50"W), e Pereira (40°10'48.15"N-8°35'2.63"W) e em zonas no centro de Coimbra como Escola Superior Agrária de Coimbra (40°12'49.30"N-8°27'6.92"W) e Jardim Botânico (40°12'17.04"N-8°25'16.70"W). Cada estímulo consistiu numa canção

com uma duração de 2 segundos (s) que foi modificada a partir de uma única canção para produzir dois estímulos distintos um ‘com trilos’ e um ‘sem trilos’ que integraram duas categorias de estímulos com estas designações. Foram preparados 30 conjuntos de estímulos: 30 ‘com trilos’ e 30 ‘sem trilos’, sendo cada estímulo usado apenas uma vez, para evitar a pseudoreplicação.

Todas as gravações que deram origem aos estímulos foram editadas no programa Avisoft-SASLab Pro (Version 4.3, R.Speacht, Berlin), para adição e remoção de trilos, tendo sido convertidas para uma frequência de 24000 Hz.

Para a criação dos estímulos, foram escolhidas canções já com trilos presentes no início de cada canção. Assim, para o estímulo ‘com trilos’ copiaram-se os trilos presentes no início de cada canção e adicionaram-se ou subtraíram-se trilos iguais até perfazer um total de 8 trilos (Figura 4a), sendo que este número de trilos está bem dentro da variação natural da espécie em estudo (Mota e Cardoso 2001). Para o estímulo sem trilos removeram-se os trilos presentes no início da canção (Figura 4b). A duração das canções de ambos os estímulos foi ajustada, para garantir que tivessem a mesma duração. Os parâmetros utilizados para a criação do espectrograma de cada estímulo foram a janela “Hamming”, FFT=256 Hz, “Frame” = 100% e “Overlap” de 50% o que resulta numa largura de banda de 122 Hz, resolução de frequência de 94 Hz e um tempo de resolução de 5,3 ms. Quando necessário foi aplicado um filtro “High Pass” de 2 kHz para eliminar os ruídos de baixa frequência. Por último as gravações foram estandardizadas a um volume de 90%. A amplitude de cada estímulo emitido a 1 metro foi fixada em 70 ± 1.17 dB, utilizando um Sonómetro RS-232 72-860A Tenma Test Equipment.

Capítulo 2

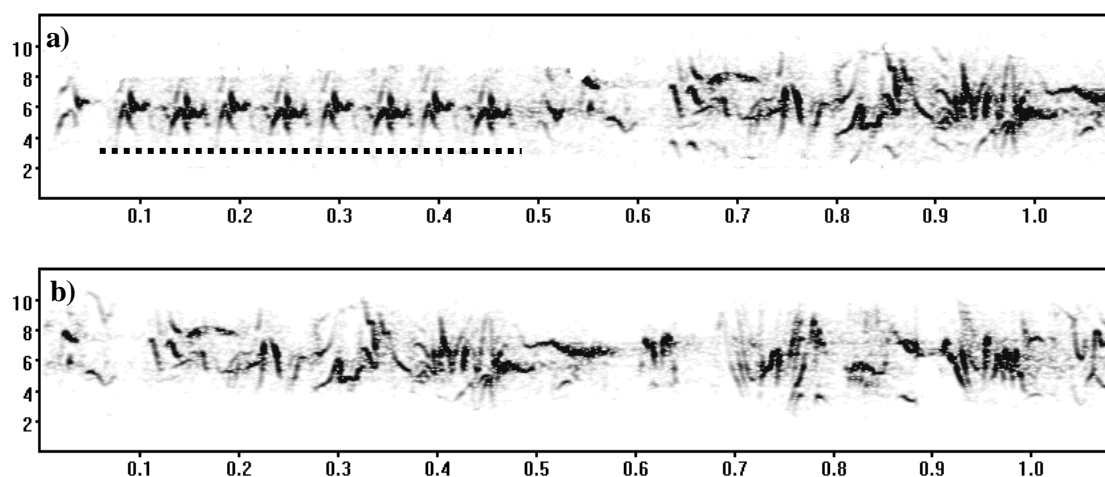


Figura 4. Espectrograma de parte de um estímulo com trilos (a) e de um estímulo sem trilos (b) (A linha a tracejado indica os 8 trilos presentes no início da canção)

2.3. Desenho experimental

Os machos foram selecionados de acordo com o seguinte critério: todos os machos que se observaram em actividade de canto intenso, ao longo dos percursos realizados pelos investigadores, foram gravados e sujeitos à experiência. Só foram mantidas as gravações dos machos que se mantiveram no local ao longo de toda a experiência.

O desenho experimental consistiu na gravação dos machos e registo do seu comportamento em três fases distintas, mas em sequência num total de 3 minutos. Primeiro, o canto do indivíduo foi gravado durante 1 minuto ‘fase antes do playback’. Esta primeira fase serviu para ter um canto não condicionado para poder utilizar como controlo. Procedeu-se, de seguida, à emissão de um “playback interativo” durante 1 minuto, em que o indivíduo foi sujeito a um desafio, tendo as canções sobrepostas sistematicamente pelo estímulo, como se de um desafio intenso se tratasse. Continuou a gravar-se o indivíduo durante mais 1 minuto, após o termo do “playback”, sendo esse período denominado ‘fase após o playback’. Foram ainda registadas as respostas

Materiais e Métodos

comportamentais do indivíduo durante a fase de apresentação do estímulo. As variáveis comportamentais registadas foram a latência e tempo de aproximação, comportamentos de ameaça, comportamentos de “fly overs”, comportamento de voar depois do “playback”, latência de movimento e comportamentos de cantar durante o voo. (Ver anexo I onde se apresenta um etograma dos comportamentos).

As gravações foram realizadas com um gravador portátil digital Marantz Pro PMD660 conectado a um microfone unidirecional Sennheiser MKH70 com uma proteção contra o vento. Os estímulos foram emitidos em formato WAV através de um i-Pod (Apple) nano touch de 8 Gb e de uma coluna Sony SRS-A57 colocada sobre um tripé de 1 metro do solo, para evitar efeitos de solo sobre o som. O conjunto coluna de som, indivíduo e microfone formaram os vértices de um triângulo equilátero com uma distância entre cada vértice de cerca de 10 metros (Figura 5).

Os estímulos foram escolhidos de modo a evitar que os indivíduos fossem sujeitos a canções da sua zona geográfica (ver anexos I,II).

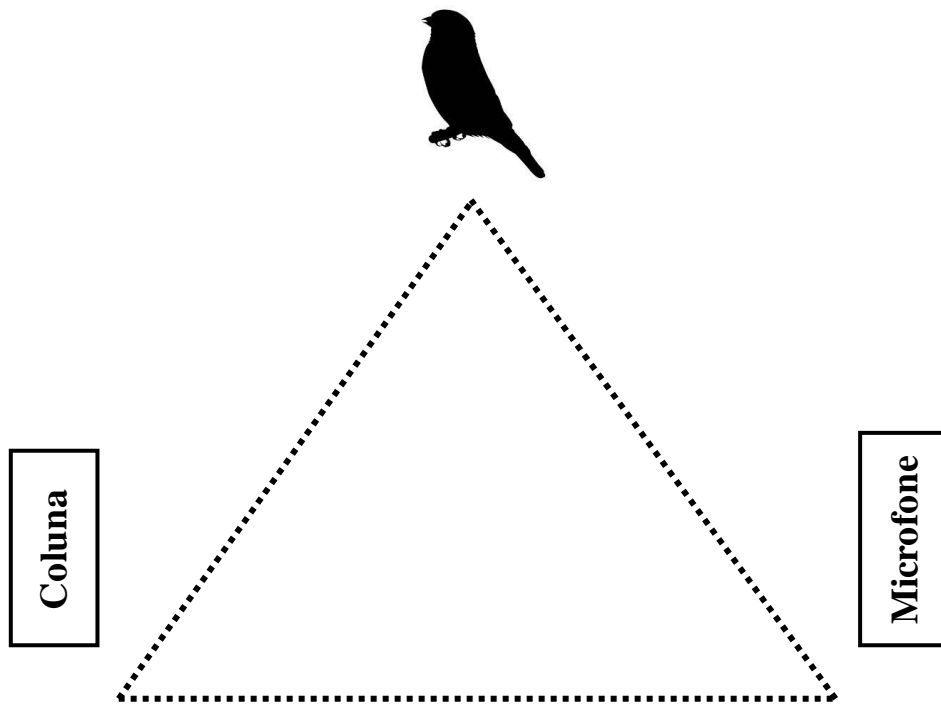


Figura 5. Esquema representativo do desenho experimental realizado em campo.

2.4. Análise das gravações

Cada gravação diz respeito a um indivíduo diferente testado apenas com um estímulo. De um inicial de 52 gravações mantiveram-se para análise 40, sendo que as outras 12 não apresentavam qualidade suficiente para análise espectrográfica. As análises dos espectrogramas das canções foram feitas com Avisoft-SASLab Pro (Version 4.3, R.Specht, Berlin). Cada gravação foi convertida para uma frequência de 24000 Hz. Os parâmetros utilizados para a criação do espectrograma de cada gravação foram a janela “Hamming”, FFT=256 Hz, ”Frame” = 100% e “Overlap“ de 50% o que resulta numa largura de banda de 122 Hz, resolução de frequência de 94 Hz e um tempo de resolução de 5,3 ms. Quando necessário foi aplicado um filtro “High Pass” de 2 kHz para eliminar os ruídos de baixa frequência.

Os parâmetros do canto como a duração da canção e o intervalo entre canções foram medidos com o auxílio das ferramentas de medição automática. O número de trilos e o tipo de trilos presentes em cada canção foi medido por inspeção visual no espectrograma, tendo sido calculado no final os valores médios de cada parâmetro para cada indivíduo em cada fase do “playback”.

2.5. Análise estatística

O tratamento estatístico dos dados foi feito através do Software SPSS 20.0 IBM Statistics ® para o Windows.

Apesar de existirem 40 gravações válidas em dois testes não foi possível visualizar o comportamento do indivíduo, diminuindo assim para 38 a amostra para a análise do registo comportamental.

Para analisar os parâmetros de canto (Duração canções, Intervalo entre canções, Número de trilos, Conjuntos de trilos diferentes) testou-se a normalidade e a homogeneidade das variâncias através de um teste de Kolmogorov-Smirnov e um teste de Levene, respetivamente. Todas as variáveis apresentavam normalidade e homogeneidade exceto a variável do intervalo entre canções. Para a normalizar procedeu-se à sua transformação através da função Log_{10} . Com os pressupostos de homogeneidade e da normalidade válidos foi possível aplicar testes paramétricos para analisar os dados. Em primeiro realizou-se uma Anova de medições repetidas. Este tipo de análise emparelhada garante uma comparação intra-individual, que possibilita controlar (ou mesmo eliminar) fontes de variabilidade decorrentes das diferenças inter-individuais. Uma vez que, a Anova de medições repetidas para a duração das canções mostrou que havia uma interação entre a fase e o tipo de estímulo - isto é, a resposta das aves nas três fases (Antes, Durante, Depois) do “playback” foi diferente para os dois

Capítulo 2

tipos de estímulos- decidiu-se analisar os fatores separadamente. Para isso, reduzimos a variação de um dos fatores (fase) a um único valor, calculando a diferença de valores entre a fase antes e durante para comparar entre os dois tipos de estímulos. Para tal, calculou-se a diferença de valores durante-antes, para se testar, através de uma Anova de 1 via, os dois grupos (com trilos e sem trilos) separadamente e verificar se existem diferenças significativas.

Nos parâmetros de comportamento testou-se a normalidade e a homogeneidade das variâncias e verificou-se mesmo após tentativas de transformação, que a latência de aproximação e de movimento não cumpriam os requisitos para a realização de um teste paramétrico. Assim, foi aplicado um teste de Mann-Whitney para amostras independentes com o objetivo de testar se existem diferenças significativas nas latências de movimento e de aproximação entre os indivíduos sujeitos ao estímulo com trilos e os indivíduos sujeitos ao estímulo sem trilos. Para as variáveis de ameaça, aproximação, "fly overs", voar depois do "playback" e cantar durante o voo realizou-se um teste do Qui Quadrado para testar se o grupo de indivíduos sujeitos aos estímulos com trilos e sem trilos têm relativamente a cada variável uma distribuição aleatória, isto é, que a variável é independente dos grupos.

Em todos os testes o nível de significância foi de 0.05.

Capítulo 3

Resultados

Capítulo 3

3.1. Resposta Comportamental

Verificou-se uma diferença muito significativa na variável de aproximação entre os indivíduos sujeitos ao “playback” com trilos e os indivíduos sujeitos ao “playback” sem trilos ($\chi^2_{[1]} = 10,556$, $p < 0,001$, $n=38$). Enquanto 73,7 % dos indivíduos que foram sujeitos a canções com trilos se aproximaram da coluna, apenas 21,1% dos indivíduos sujeitos a “playback” de canções sem trilos se aproximaram.

A latência de aproximação também difere significativamente entre as situações com trilos e as situações sem trilos ($Z_{[1,36]} = -2.634$, $p= 0,008$), em que os indivíduos perante o estímulo com trilos se aproximaram mais rapidamente da coluna. (Figura 6). A latência de movimento não difere significativamente entre os indivíduos sujeitos aos “playbacks” com trilos e sem trilos (Tabela I).

Tabela I. Comparação das latências de aproximação e de movimento entre os indivíduos sujeitos aos “playbacks” com trilos e sem trilos através de um teste Mann-Whitney (Z- valor do teste, p- valor de probabilidade), $n=20$.

	Estímulo	Média ± EP	Z	p
Latência Aproximação	Com Trilos	37,083 ± 8,507	-2,634	0,008
	Sem Trilos	53,778 ± 12,337		
Latência Movimento	Com Trilos	37,083 ± 8,507	-1,058	0,290
	Sem Trilos	31,417 ± 7,207		

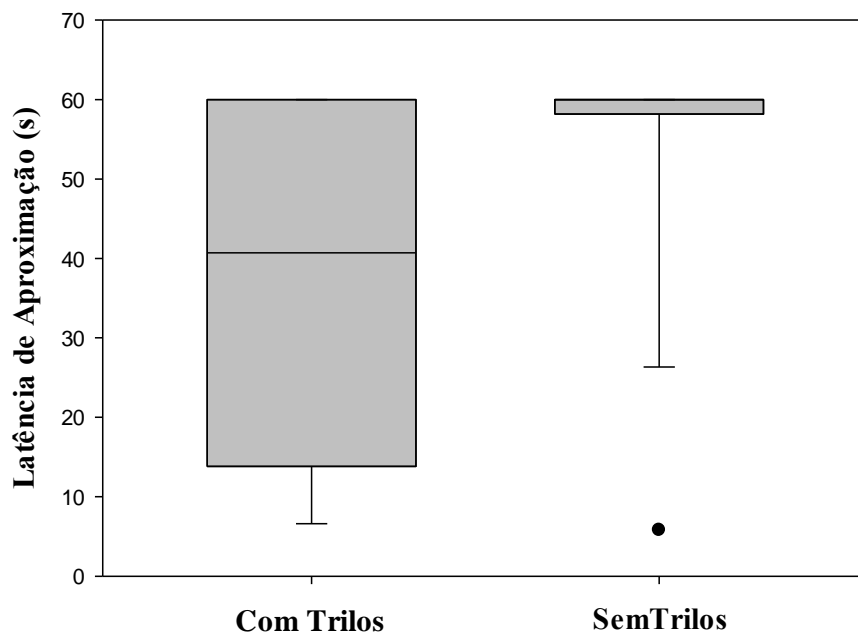


Figura 6. Valores da latência de aproximação à coluna entre os indivíduos sujeitos aos “playbacks” com trilos e sem trilos representados por uma box plot. A linha central do gráfico representa a mediana, os limites da caixa são os quartis de 25% e 75% e as linhas representam os interquartis.

Existe uma diferença significativa no número de “fly overs” entre os indivíduos sujeitos ao “playback” com trilos e os indivíduos sujeitos ao “playback” sem trilos ($\chi^2_{[1]} = 5,397$, $p = 0,020$, $n = 38$). Assim, 57,9% dos indivíduos sujeitos ao “playback” sem trilos apresentaram este comportamento contra 21,1% dos indivíduos sujeitos ao “playback” com trilos. Aparentemente, em vez de se aproximarem da coluna estas aves optaram mais por circundar a coluna e o espaço à volta.

Os comportamentos de ameaça face ao estímulo foram significativamente mais frequentes nos indivíduos sujeitos aos “playbacks” com trilos ($\chi^2_{[1]} = 9,947$, $p < 0,001$, $n = 38$). Dos indivíduos sujeitos ao “playback” com trilos, 63,5% apresentaram um comportamento de ameaça, contra 0% dos indivíduos sujeitos ao “playback” sem trilos (Figura 7).

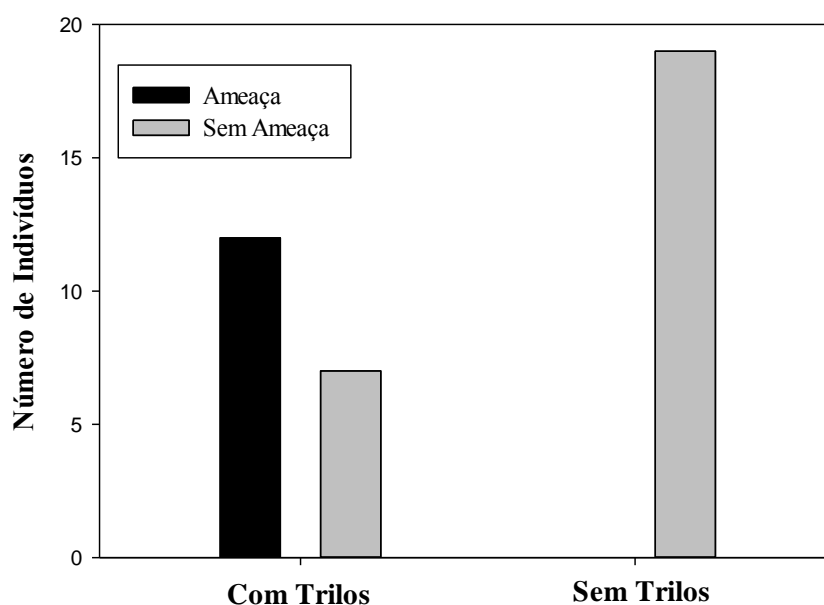


Figura 7. Número de indivíduos que mostraram comportamento de ameaça perante os “playbacks” com trilos e sem trilos.

Existe uma diferença quase significativa no número de voos depois do “playback” ($\chi^2_{[1]} = 3,199$, $p = 0,070$, $n = 38$) com os indivíduos sujeitos ao “playback” com trilos a exibirem mais vezes esse comportamento. Em 42,1% das situações com trilos os indivíduos mudaram de posição, contra 15,8% nas situações sem trilos.

Não existem diferenças significativas na variável cantar durante o voo entre os indivíduos que foram sujeitos aos “playbacks” com trilos e sem trilos ($\chi^2_{[1]} = 1,152$, $p = 0,283$, $n = 28$).

3.2. Resposta Vocal

Verificou-se existir uma interação significativa entre a fase e o tipo de estímulo na duração das canções ($F_{[2,38]} = 3,537$, $p = 0,034$). Quando se testaram o intervalo entre canções, número de trilos e conjuntos de trilos verificou-se não existirem diferenças significativas entre as três fases do “playback”, nem interação das fases com o tipo de

estímulo (Tabela II). A interação verificada entre o tipo de estímulo e as fases na duração das canções significa que as aves têm respostas diferentes ao longo das fases consoante o estímulo, o que justifica a sua análise separada. Assim, mediu-se a variação entre o antes e durante e comparou-se entre os dois tipos de estímulos. Para isso calculou-se a diferença durante-antes e testou-se entre os dois grupos de estímulos. Observou-se que existe uma diferença significativa entre os indivíduos sujeitos a canções com trilos e sem trilos ($F_{[2,38]} = 6,017$, $p = 0,019$) (Tabela III). Os indivíduos perante um “playback” com canções com trilos cantaram canções mais longas durante o “playback” relativamente ao período antes do “playback”, o que não se registou nos indivíduos sujeitos a canções sem trilos tendo-se verificado, nestes últimos, uma redução nas durações das suas canções durante o “playback” (Figura 8).

Tabela II. Comparação de cada parâmetro de canto entre os indivíduos sujeitos ao “playback” com trilos e sem trilos durante as 3 fases e a interação com o tipo de estímulo através de uma Anova de medições repetidas (F- valor do teste, p- valor de probabilidade), n=20.

	Fases	Média ± EP		F	p
		Com Trilos	Sem Trilos		
Duração Canções	Antes	2,947 ± 3,482	0,659 ± 0,779	0,675	0.512
	Durante	3,384 ± 2,982	0,757 ± 0,667		
	Depois	3,075 ± 2,964	0,687 ± 0,663		
Interação com tipo de estímulo				0,512	0,034
Int.entre Canções	Antes	3,556 ± 3,651	0,795 ± 0,816	2,311	0,106
	Durante	4,468 ± 6,027	0,999 ± 1,348		
	Depois	4,669 ± 3,745	1,044 ± 0,837		
Interação com tipo de estímulo				1,023	0,364
Nº Trilos	Antes	10,751 ± 10,781	2,404 ± 2,411	1,798	0,713
	Durante	12,219 ± 10,040	2,732 ± 2,245		
	Depois	8,631 ± 10,124	1,930 ± 2,264		
Interação com tipo de estímulo				1,798	0,713
Conjunto de Trilos	Antes	1,753 ± 1,649	0,392 ± 0,369	1,637	0,201
	Durante	1,959 ± 1,435	0,438 ± 0,321		
	Depois	1,467 ± 1,486	0,328 ± 0,332		
Interação com tipo de estímulo				2,009	0,141

Capítulo 3

Tabela III. Comparação da variação da duração das canções (durante-antes) entre os indivíduos sujeitos ao “playback” com trilos e sem trilos através de uma Anova de uma via (F- valor do teste, p- valor de probabilidade), n=20.

	Estimulo	Média ± EP	F	p
Duração Canções	Com Trilos	0,437 ± 0,659	6,017	0,019
	Sem trilos	-0,500 ± 0,779		

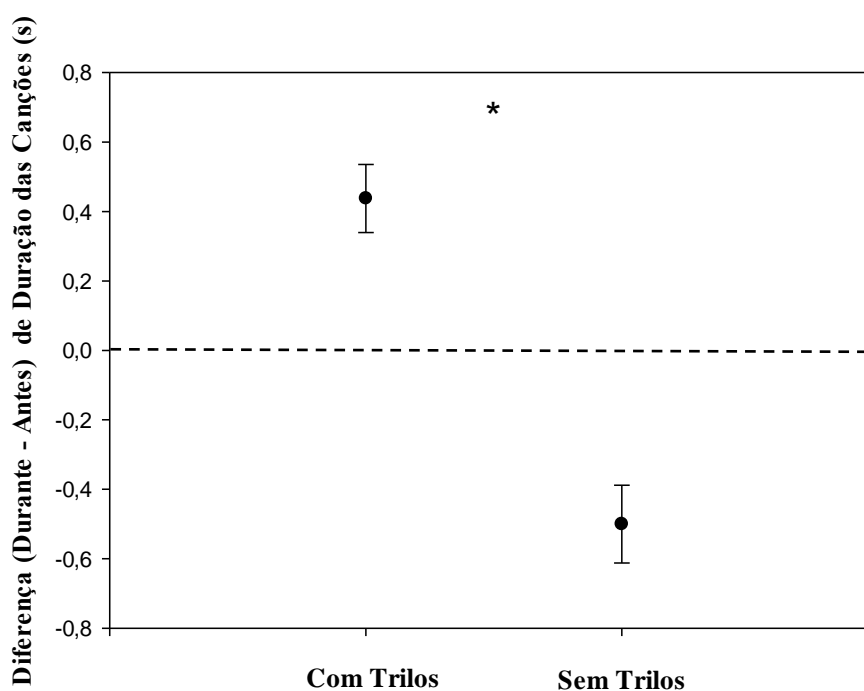


Figura 8. Valor médio da diferença entre as fases antes-durante do “playback” na duração das canções dos indivíduos sujeitos ao “playback” com trilos e sem trilos.

Pretendemos verificar se os indivíduos respondiam com mais ou menos trilos quando sujeitos aos dois tipos de “playbacks”. Quando comparámos o número de trilos de cada indivíduo antes e durante, verificámos que essa variação ocorreu nos dois sentidos, sem uma tendência evidente. Enquanto uns indivíduos aumentaram o número de trilos, outros diminuíram como resposta ao “playback”. O aumento máximo que se

verificou nos indivíduos sujeitos aos “playbacks” com trilos foi cerca de 15 trilos enquanto a diminuição foi cerca de 10 trilos (Figura 9a). O mesmo tipo de variação foi observado nos indivíduos sujeitos aos “playbacks” sem trilos. Nestes o aumento máximo de trilos no período durante o “playback” foi cerca de 10 trilos enquanto a diminuição foi cerca de 16 trilos (Figura 9b).

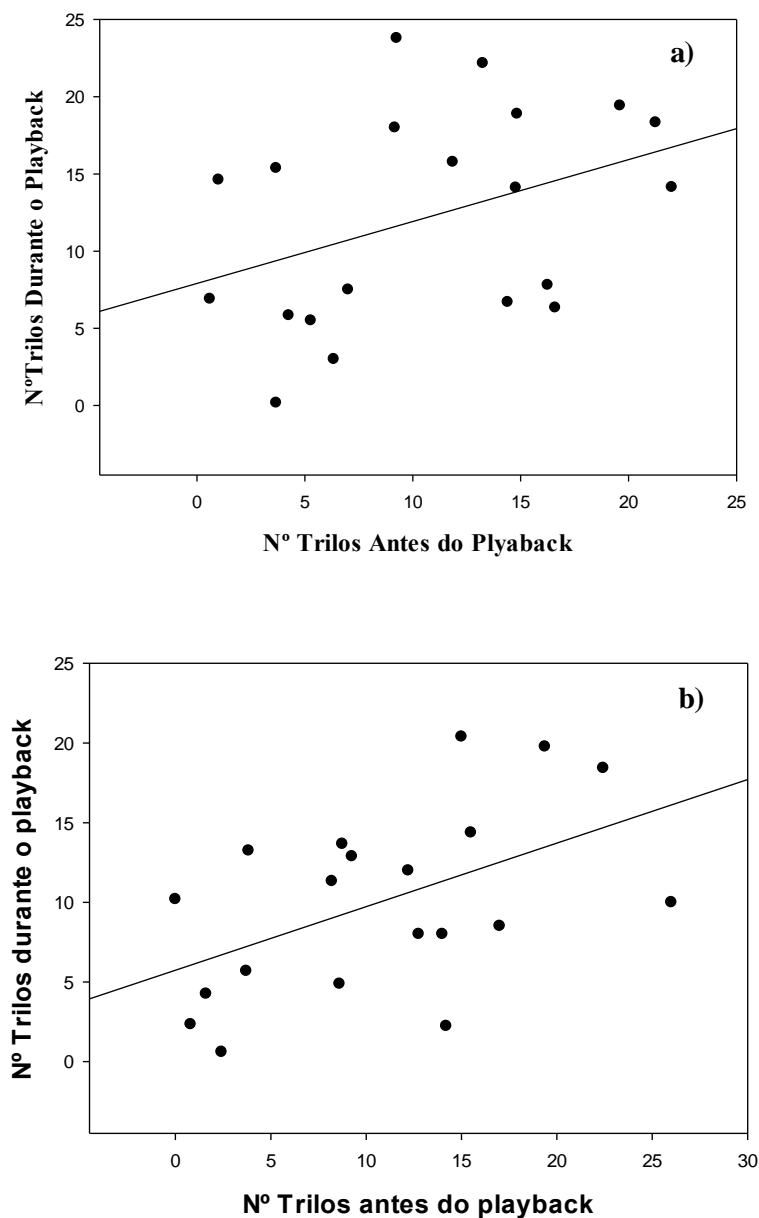


Figura 9. Variação do número de trilos entre a fase antes e durante do “playback” nos indivíduos sujeitos ao “playback” com trilos (a) e sem trilos (b). As linhas representam a reta da regressão.

Capítulo 3

Estes resultados indicam que a presença de trilos nos estímulos não induziu os indivíduos a apresentarem uma resposta sistemática, aumentando ou diminuindo o número de trilos nas suas canções.

Capítulo 4

Discussão

Capítulo 4

4.1. Respostas vocais e comportamentais

No presente estudo demonstrou-se que os indivíduos que foram sujeitos a um estímulo de “playback” de canções com trilos aproximaram-se com maior frequência da coluna, com um menor tempo de latência e apresentaram comportamentos de ameaça em 63,5% das situações. Também se verificaram diferenças no comportamento de canto, sendo que os indivíduos durante o “playback” do estímulo com trilos aumentaram a duração das suas canções relativamente à condição sem trilos. O tipo e a intensidade das respostas comportamentais dos indivíduos nas duas situações leva-nos a considerar que os trilos promovem um comportamento agressivo por parte dos machos.

Com este trabalho questionámo-nos sobre as seguintes hipóteses: 1) Quando estimulados com os trilos, os machos alteram algum dos parâmetros de canto, em resposta ao desafio provocado por um “playback” interativo com sobreposição; 2) Os machos respondem mais agressivamente às canções com trilos, aproximando-se mais e mais rapidamente da coluna que reproduz o estímulo; 3) Os machos exibem mais comportamentos de ameaça perante estímulos com trilos. Os resultados mostraram que todas as hipóteses foram confirmadas. Em primeiro, observou-se que os indivíduos em resposta a um desafio de sobreposição de canto com canções com trilos, cantaram canções mais longas. Em segundo, os machos perante o “playback” com trilos mostraram mais frequentemente um comportamento de aproximação à coluna com um menor tempo de latência. Por último, como resposta às canções com trilos os machos mostraram na maioria das situações comportamentos de ameaça.

4.1.1. Resposta comportamental

Os indivíduos ao serem confrontados com estímulos de canções com trilos voaram em direção da coluna em 73,7% das situações, com uma menor latência, sendo este resultado suportado por outros estudos. Nos Rouxinóis verificou-se que estes aproximavam-se mais da coluna que reproduzia um “playback” que continha trilos do que da coluna que reproduzia uma canção sem trilos (Schmidt, Kunc et al. 2008), enquanto os machos de Rola-turca apresentavam uma menor latência de voo à coluna que reproduzia um “playback” de canções com trilos do que à coluna que reproduzia um “playback” de canções sem trilos (Secondi, den Hartog et. al 2003). Por último, um estudo com o Tentilhão comum (*Fringilla Coelebs*), mostrou que os machos se aproximavam mais da coluna que continha “playbacks” com as sequências de trilos do que a coluna que reproduzia “playbacks” sem a sequência de trilos (Leitão 2003). Interpretamos o comportamento de aproximação à coluna e uma menor latência de aproximação como indicativos de uma elevada motivação do indivíduo para demonstrar um comportamento agressivo, sendo estas duas variáveis utilizadas comumente em outros estudos para demonstrar a intenção agressiva por parte dos indivíduos (McGregor, Catchpole et al. 1992; Dabelsteen, McGregor et al. 1997; Molles e Vehrencamp 2001). O facto de não haver diferenças significativas na latência de movimento e o comportamento de ameaça ter sido claramente demonstrado pelos indivíduos que foram sujeitos aos “playbacks” com trilos, acaba por reforçar o significado da presença dos trilos nas canções.

Por outro lado, os indivíduos ao serem confrontados com canções sem trilos apresentaram comportamentos de “fly overs” em 57,9% das situações. Os indivíduos ao terem as suas canções sobrepostas por um estímulo sem trilos, não se aproximaram diretamente da coluna, mas realizaram voos em círculo sobre esta por possivelmente

Capítulo 4

não se sentirem tão ameaçados. É frequente os machos destas aves realizarem voos em círculos e voos de canto para “demarcarem” um espaço à sua volta, geralmente na proximidade da fêmea do par que seguem muito proximamente durante o seu período fértil (Mota 1999). Esta espécie não é territorial pelo que o canto não serve para defesa do território mas parece ter um papel nas interações agonísticas entre machos. O facto de uma sobreposição de canto, mesmo com uma canção sem trilos, desencadear comportamentos de “fly overs” parece indicar que os machos defendem o seu “espaço” contra a aproximação de outros machos. Isto acontece porque nesta espécie a corte extra-par e as tentativas de cópulas extra-par são comuns (Mota 1995), e como este trabalho foi realizado durante a época reprodutiva, ao sobreposmos o canto de um indivíduo terá sido suficiente para este se sentir ameaçado e realizar círculos de voo de forma a “demarcar” o seu espaço contra a aproximação de um outro indivíduo.

Assim, os nossos resultados mostram que estamos perante dois tipos respostas comportamentais diferentes, dependendo do tipo de estímulo a que o indivíduo for sujeito, tendo a presença dos trilos despoletado um comportamento agressivo enquanto a sobreposição de canto, por si só levou aos indivíduos a realizarem círculos de voo por se sentirem ameaçados com uma possível presença de outro macho no mesmo espaço.

4.1.2. Resposta Vocal

Os machos responderam ao “playback” com trilos com canções mais longas, possivelmente não para sobrepor as canções emitidas pela coluna mas sim para ocuparem mais o espaço acústico ou porque apresentam um estado motivacional mais elevado por se sentirem mais ameaçados. Por outro lado, os indivíduos responderam ao “playback” de canções sem trilos com canções mais curtas, porque possivelmente não se sentiram tão ameaçados como os machos sujeitos às canções com trilos.

Contrariamente às nossas expectativas não houve variação noutros parâmetros de canto. Relativamente ao intervalo entre canções possivelmente existiram diferenças se o indivíduo propositadamente tentasse evitar a sobreposição do seu canto, algo que não se verificou. Quanto ao número de trilos como resposta ao “playback” esperávamos que ocorresse uma variação, contudo a variação que se verificou não foi consistente com o tipo de estímulo. A variação no número de trilos reproduzidos ocorreu nos dois sentidos, isto é, uns indivíduos aumentaram o número de trilos e outros diminuíram, independentemente do tipo de estímulo usado. Isto é indicativo que os trilos são um traço muito lábil e não é uma consequência das diferenças intrínsecas entre os indivíduos. Sendo que a produção de trilos requer uma rápida e precisa coordenação de elementos do trato vocal (Ballentine, Hyman et al.2004), admitimos que possa ser um sinal honesto da qualidade do macho (Illes, Hall et. al 2006). Possivelmente quando um indivíduo confrontado com um “playback” com trilos pode responder com um aumento do número de trilos se conseguir suportar o custo dessa produção, o que poderia refletir a boa qualidade do indivíduo. Por outro lado, é possível que o número de trilos presente no estímulo não tenha sido provocador o suficiente para os indivíduos se sentirem motivados para responderem com mais trilos, isto porque, o número de trilos presente nos estímulos foi baixo quando comparado com os números máximos registados nas aves testadas, que foram de 24 e 25 trilos. Questionamo-nos se um número mais elevado de trilos seria o suficientemente forte para que estes respondessem com um aumento de número de trilos nas suas canções e por outro lado, durante quanto tempo eles aguentariam produzir trilos como resposta ao “playback”.

Becker (1983) sugeriu que a presença de certos elementos no sistema comunicacional pode desempenhar um papel decisivo na comunicação entre os indivíduos. Esta evidência de que certos elementos são fulcrais tanto na interação entre

Capítulo 4

machos como entre macho e fêmea é também suportada por outros estudos já realizados. Os machos de Canários ao incluírem a chamada frase A nas suas canções vão ser preferencialmente escolhidos pelas fêmeas (Vallet e Kreutzer 1995; Vallet, Beme et al. 1998). Nos Melros-pretos a presença de sílabas a uma frequência constante no início das canções é observado nas interações entre machos (Dabelsteen e Pedersen 1992,1993). Para os machos de Mobilha-grande (*Gavia immer*) um aumento do número de sílabas repetidas nas suas canções está associado a um contexto agressivo (Mager, Walcott et al. 2012). Também na Milheirinha se observou que certos elementos são importantes tanto na interação entre machos como na interação entre machos e fêmeas. Os machos que cantam canções a frequências mais elevadas são os escolhidos pelas fêmeas, o que demonstra que a presença de sílabas a elevadas frequências nas canções está envolvida na seleção inter-sexual desta espécie (Cardoso et al. 2007). Por outro lado, nos machos de Milheirinha a aceleração silábica é uma característica de canto associada a contextos agressivos entre machos (Funghi et. al. 2013 submetido à Animal Behaviour) enquanto a aceleração das canções está associado a um comportamento de evitamento por parte dos machos (Cardoso et al. 2007), o que revela que estas características estão envolvidas na seleção intra-sexual. Isto vai ao encontro dos nossos resultados, que mostraram que a presença de trilos nas canções é eficaz no desencadear de um comportamento agressivo por parte dos machos. Como os trilos são uma aceleração silábica, e como já referido anteriormente, que o aumento da taxa silábica está associado a contextos agressivos entre machos, podemos concluir de forma mais concludente que os trilos funcionam como um sinal agressivo estando envolvidos na comunicação intra-sexual desta espécie.

4.2. Considerações sobre o desenho experimental

Como já foi referido, o uso de “playbacks” interativos é um dos métodos mais usados para estudar a comunicação nas aves (McGregor, Catchpole et al. 1992; McGregor, Dabelsteen et al. 1992). Através dos “playbacks” interativos conseguimos simular a presença de uma ave a sobrepor o canto de outro indivíduo através de um estímulo que consistia numa canção com ou sem trilos. Mas o que tornou este desenho experimental particularmente interessante, tendo sido apenas usado num trabalho anterior (Funghi et. al. 2013 submetido à *Animal Behaviour*), foi o facto de usarmos o próprio indivíduo como controlo de ele próprio. Ao testar o mesmo indivíduo durante três fases seguidas (Antes-Durante-Depois) permitiu-nos ter um grupo controlo (fase antes) de forma a poder comparar as respostas do indivíduo perante o desafio de “playback”. Sem este tipo de desenho experimental não seria possível ter uma forma de comparação e inferir qual o significado da presença de trilos no início da canção. Para além disso, o facto das experiências se terem realizado no mesmo período do dia (manha) e durante a época reprodutiva (Março e Abril de 2013) controlou um possível efeito que estas variáveis poderiam ter na resposta dos indivíduos.

Relativamente aos desafios de sobreposição de canto, sabe-se que estes por si só induzem respostas agressivas por parte dos machos (Todt 1981; Brindley 1991; Dabelsteen, McGregor et al. 1996,1997; Langemann, Tavares et al. 2000; Naguib e Kipper 2006). Assim, apesar de parecer que o desafio de sobreposição de canto e a presença dos trilos nas canções transmitem a mesma informação é necessário ter em conta que a informação contida em cada sinal pode variar dependendo do contexto. Enquanto o desafio de sobreposição de canto pode ser apenas usado quando indivíduo está a cantar, a produção de trilos pode ser uma via que o indivíduo escolhe para

Capítulo 4

mostrar a sua motivação/agressividade sem que um outro indivíduo demonstre qualquer tipo de comportamento de canto (Schmidt, Kunc et al. 2008).

Por outro lado, estudos anteriores que manipularam os valores de um parâmetro de canto de forma a inferir qual o seu significado no sistema comunicacional não tiveram os resultados pretendidos porque possivelmente essa manipulação foi além dos limites naturais de variação de cada espécie (Nelson 1988). Portanto, neste trabalho os machos de *Serinus serinus* foram sujeitos a um desafio de sobreposição de canto com canções com um número de trilos que está bem dentro da sua variação natural (Mota e Cardoso 2001).

4.3. Trabalhos futuros

Tomando em conjunto, espera-se que os presentes resultados motivem trabalhos futuros para explicar melhor o significado dos trilos, mais especificamente testar se a condição física está realmente relacionada com o número de trilos que o indivíduo consegue incluir nas suas canções. Também recorrendo ao mesmo desenho experimental deste trabalho verificar se os indivíduos ao serem sujeitos a um “playback” com um número de trilos mais extremo (dentro do seu limite natural) mostrariam uma variação mais consistente relativamente ao número de trilos presente nas canções. Por último, seria interessante testar se canções com durações maiores são reconhecidas como um sinal agressivo. Estudos, como por exemplo o dos machos de “white-crowned sparrow” (Nelson e Poesel 2012), demonstraram que os machos quando estão num contexto agressivo cantam canções mais longas, tendo o presente trabalho demonstrado resultados semelhantes, mas em resposta aos estímulos com trilos.

4.4. Conclusões Finais

Os resultados obtidos neste estudo cumprem o segundo e o terceiro critério de Searcy e Beecher (2009). O segundo critério é cumprido porque os indivíduos mostraram um comportamento de ameaça, aproximaram-se da coluna mais frequentemente com uma menor latência, o que indica que os trilos predizem um comportamento agressivo por parte dos machos. O terceiro critério é satisfeito porque os indivíduos responderam ao “playback” de canções com trilos com canções mais longas, o que indica que os machos respondem ao sinal que está a ser emitido pela coluna. Assim, este estudo permite concluir que os trilos iniciais presentes nas canções *Serinus serinus* são um sinal honesto de agressividade sendo um importante parâmetro da seleção intra-sexual, isto porque é possível que os trilos presentes nas canções dos machos sejam indicadores do potencial competitivo do emissor, fornecendo informação que pode influenciar o desenlace do confronto.

O facto do número de trilos como resposta ao “playback” não ter tido a variação que esperávamos, leva-nos a considerar qual a variabilidade deste sinal no sistema comunicacional desta espécie uma vez que observamos que os indivíduos conseguiram variar imenso o número de trilos nas suas canções, o que nos leva a crer que se trata de um traço vocal com bastante plasticidade.

É válido afirmar, para a espécie *Serinus serinus*, que diferentes traços do canto estão associados a diferentes funções estando essas funções, como vimos anteriormente, ligadas à seleção intra-sexual e inter-sexual, o que é revelador da extraordinária complexidade comunicacional do canto desta espécie.

Referências Bibliográficas

- Andersson, M. B. (1994). *Sexual Selection*. Princeton, New Jersey, Princeton University Press.
- Ballentine, B., J. Hyman, et al. (2004). "Vocal performance influences female response to male bird song: an experimental test." *Behavioral Ecology* 15(1): 163-168.
- Becker, P. H. (1983). The coding of species-specific characteristics in birds sounds. In: *Acoustic communication in Birds*, New York: Academic Press.
- Bradbury, J. W. e S. L. Vehrencamp (1998). *Principles of animal communication*. Sunderland, Sinauer Associates.
- Brainard, M. S. e A. J. Doupe (2002). "What songbirds teach us about learning." *Nature* 417(6886): 351-358.
- Brindley, E. L. (1991). "Response of European Robins to playback of song - Neighbor recognition and overlapping." *Animal Behaviour* 41: 503-512.
- Buchanan, K. L. (2000). "Stress and the evolution of condition-dependent signals." *Trends in Ecology & Evolution* 15(4): 156-160.
- Burt, J. M. e S. L. Vehrencamp (2005). Dawn chorus as an interactive communication network. In: *Animal Communication Network*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Cardoso, G. C., A. T. Mamede, et al. (2008). "Song Frequency Does Not Reflect Differences in Body Size among Males in Two Oscine Species." *Ethology* 114(11): 1084-1093.
- Cardoso, G. C. e P. G. Mota (2004). "Female serin (*Serinus serinus*) responses to song do not favour the predominant song syntax." *Ethology Ecology & Evolution* 16(4): 329-338.

- Cardoso, G. C., P. G. Mota, et al. (2007). "Female and male serins (*Serinus serinus*) respond differently to derived song traits." *Behavioral Ecology and Sociobiology* 61(9): 1425-1436.
- Cardoso, G. C e P. G. Mota (2009). "Loudness of syllables is related to syntax and phonology in the songs of Canaries and seedeaters." *Behaviour* 146: 1649-1663.
- Catchpole, C. K. e P. J. B. Slater (1995). *Bird Song: biological themes and variations*. Cambridge, Cambridge University Press.
- Cramer, E. R. A. (2012). "Vocal deviation and trill consistency do not affect male response to playback in house wrens." *Behavioral Ecology* 24(2): 412-420.
- Cramp, S., Perrins, C. M. (Coord.) (1994). *Handbook of the birds of Europe, the Middle East and North Africa - the birds of the Western Palearctic*. Oxford, Oxford University Press.
- Dabelsteen, T., P. K. McGregor, et al. (1997). "The signal function of overlapping singing in male robins." *Animal Behaviour* 53: 249-256.
- Dabelsteen, T., P. K. McGregor, et al. (1996). "Is the signal value of overlapping different from that of alternating during matched singing in Great Tits?" *Journal of Avian Biology* 27(3): 189-194.
- Dabelsteen, T. e S. B. Pedersen (1992). "Song features essential for species discrimination and behavior assessment by male Blackbirds (*Turdus merula*)." *Behaviour* 121: 259-287.
- Dabelsteen, T. e S. B. Pedersen (1993). "Song based species discrimination and behavior assessment by female Blackbirds, *Turdus merula*." *Animal Behaviour* 45(4): 759-771.
- Darwin, C. (1871). *The descent of man, and selection in relation to sex*. London, John Murray.

- de Kort, S. R., E. R. B. Eldermire, et al. (2009). "Trill consistency is an age-related assessment signal in banded wrens." *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 276(1665): 2315-2321.
- Fisher, R. A. (1930). *The genetical theory of natural selection*. Oxford, U.K., Clarenton Press.
- Fungi, C., G. C. Cardoso, et al. (2013). "Increased syllable rate is aggressive in a bird with complex songs". submetido à *Animal Behaviour*.
- Gammon, D. E., M. C. Hendrick, et al. (2008). "Vocal communication in a songbird with a novel song repertoire." *Behaviour* 145: 1003-1026.
- Garamszegi, L. Z. e M. Eens (2004). "Brain space for a learned task: strong intraspecific evidence for neural correlates of singing behavior in songbirds." *Brain Research Reviews* 44(2-3): 187-193.
- Gil, D. e M. Gahr (2002). "The honesty of bird song: multiple constraints for multiple traits." *Trends in Ecology & Evolution* 17(3): 133-141.
- Hall, M. L., A. Illes, et al. (2006). "Overlapping signals in banded wrens: long-term effects of prior experience on males and females." *Behavioral Ecology* 17(2): 260-269.
- Horn, A. G. e J. B. Falls (1991). "Song switching in mate attraction and territory defense by Western Meadowlarks (*Sturnella neglecta*)." *Ethology* 87(3-4): 262-268.
- Horn, A. G., M. L. Leonard, et al. (1992). "Frequency variation in songs of Black-capped Chickadees (*Parus atricapillus*)." *Auk* 109(4): 847-852.
- Illes, A. E., M. L. Hall, et al. (2006). "Vocal performance influences male receiver response in the banded wren." *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 273(1596): 1907-1912.

- Kipper, S. e S. Kiefer (2010). Age-Related Changes in Birds' Singing Styles: On Fresh Tunes and Fading Voices? *Advances in the Study of Behavior* 41: 77-118.
- Krebs, J. R., R. Ashcroft, et al. (1981). "Song matching in the great tit *Parus Major* L." *Animal Behaviour* 29(AUG): 918-923.
- Kroodsma, D. E. e B. E. Byers (1991). "The function(s) of bird song." *American Zoologist* 31(2): 318-328.
- Lambrechts, M. M. (1997). "Song frequency plasticity and composition of phrase versions in Great Tits *Parus major*." *Ardea* 85(1): 99-109.
- Langemann, U., J. P. Tavares, et al. (2000). "Response of great tits to escalating patterns of playback." *Behaviour* 137: 451-471.
- Leitao, A. e K. Riebel (2003). "Are good ornaments bad armaments? Male chaffinch perception of songs with varying flourish length." *Animal Behaviour* 66: 161-167.
- Leitao, A. M. , A.H. Monteiro, et al. (2013). "Ultraviolet reflectance influences female preference for colourful male in the European serin" *aceite na Behavioral Ecology and Sociobiology*.
- Mager, J. N., C. Walcott, et al. (2012). "Male Common Loons signal greater aggressive motivation by lengthening territorial yodels." *Wilson Journal of Ornithology* 124(1): 73-80.
- Mamede, A. T. e P. G. Mota (2012). "Limited Inter-Annual Song Variation in the Serin (*Serinus serinus*)." *Ethology* 118(12):1157-1164.
- Marler, P. e H. Slabbekorn (2004). *Nature's music the science of birdsong*. Elviesier Academic Press.

- McEvoy, J., G. While, et al. (2013). "The role of size and aggression in intrasexual male competition in a social lizard species, *Egernia whitii*." *Behavioral Ecology and Sociobiology* 67(1): 79-90.
- McGregor, P. K., C. K. Catchpole, et al. (1992). *Playback and Studies of Animal Communication*. New York, Plenum Press.
- McGregor, P. K., T. Dabelsteen, et al. (1992). "The signal value of matched singing in Great Tits- Evidence from interactive playback experiments." *Animal Behaviour* 43(6): 987-998.
- Mennill, D. J. e L. M. Ratcliffe (2004). "Overlapping and matching in the song contests of black-capped chickadees." *Animal Behaviour* 67: 441-450.
- Molles, L. E. e S. L. Vehrencamp (2001). "Songbird cheaters pay a retaliation cost: evidence for auditory conventional signals." *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 268(1480): 2013-2019.
- Morton, E. S. e K. Young (1986). "A previously undescribed method of a song matching in a species with a single 'song type', the Kentucky Warbler (*Oporornis formosus*)." *Ethology* 73(4): 334-342.
- Mota, P. G. (1995). *Ecologia comportamento da reprodução no Serino (*Serinus serinus*, Aves: *Fringillidae*)*. Coimbra, Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra. Tese de Doutoramento em Biologia.
- Mota, P. G. (1999). "The functions of song in the serin." *Ethology* 105(2): 137-148.
- Mota, P. G. e V. Depraz (2004). "A test of the effect of male song on female nesting behaviour in the serin (*Serinus serinus*): A field playback experiment." *Ethology* 110(11): 841-850.
- Mota, P. G. e G. C. Cardoso (2001). "Song organisation and patterns of variation in the serin." *Acta ethologica* 3: 141-151.

- Naguib, M. e S. Kipper (2006). "Effects of different levels of song overlapping on singing behaviour in male territorial nightingales (*Luscinia megarhynchos*)."
Behavioral Ecology and Sociobiology 59(3): 419-426.
- Naguib, M. e D. J. Mennill (2010). "The signal value of birdsong: empirical evidence suggests song overlapping is a signal." Animal Behaviour 80(3): 11-15.
- Nelson, D. A. (1988). "Feature weighting in species song recognition by the Field Sparrow (*Spizella pusilla*)."
Behaviour 106: 158-182.
- Nelson, D. A. e A. Poesel (2012). "Responses to Variation in Song Length by Male White-Crowned Sparrows." Ethology 118(1): 24-32.
- Nice, M. M. (1943). "Studies in the life history of the song sparrow. II. The behavior of the song sparrow and other passerines." Transactions of the Linnean Society of New York 6: 1-328.
- Nottebohm, F. e A. P. Arnold (1976). "Sexual Dimorphism in vocal control areas of songbird brain." Science 194(4261): 211-213.
- Patel, R., R. A. Mulder, et al. (2010). "What Makes Vocalisation Frequency an Unreliable Signal of Body Size in Birds? A Study on Black Swans." Ethology 116(6): 554-563.
- Podos, J. (1996). "Motor constraints on vocal development in a songbird." Animal Behaviour 51: 1061-1070.
- Podos, J. (1997). "A performance constraint on the evolution of trilled vocalizations in a songbird family (Passeriformes:Emberizidae)." Evolution 51(2): 537-551.
- Podos, J. (2001). "Correlated evolution of morphology and vocal signal structure in Darwin's finches." Nature 409(6817): 185-188.
- Podos, J., S. K. Huber, et al. (2004). "Bird song: The interface of evolution and mechanism." Annual Review of Ecology Evolution and Systematics 35: 55-87.

- Ryan, M. J. e E. A. Brenowitz (1985). "The role of body size, phylogeny, and ambient noise in the evolution of bird song." *American Naturalist* 126(1): 87-100.
- Schmidt, R., H. P. Kunc, et al. (2008). "Aggressive responses to broadband trills are related to subsequent pairing success in nightingales." *Behavioral Ecology* 19(3): 635-641.
- Searcy, W. A., R. C. Anderson, et al. (2006). "Bird song as a signal of aggressive intent." *Behavioral Ecology and Sociobiology* 60(2): 234-241.
- Searcy, W. A. e M. Andersson (1986). "Sexual Selection and The Evolution of Song." *Annual Review of Ecology and Systematics* 17: 507-533.
- Searcy, W. A. e M. D. Beecher (2009). "Song as an aggressive signal in songbirds." *Animal Behaviour* 78(6): 1281-1292.
- Searcy, W. A. e M. D. Beecher (2010). "Continued scepticism that song overlapping is a signal." *Animal Behaviour* 81(1): E1-E4.
- Searcy, W. A., S. Nowick, et al. (2000). "Song type variants and aggressive context." *Behavioral Ecology and Sociobiology* 48: 358-363.
- Searcy, W. A. e S. Nowicki (2005). *The Evolution of Animal Communication- Reability and Deception in Signaling Systems*. Princeton University Press.
- Secondi, J., P. M. den Hartog, et al. (2003). "To trill or not to trill? Territorial response to a heterospecific vocal trait in male collared doves, *Streptopelia decaocto*." *Behavioral Ecology* 14(5): 694-701.
- Slater, P. J. B. (1997). "Ecology and evolution of acoustic communication in birds." *Ethology* 103(10): 876-877.
- Sprau, P., R. Schmidt, et al. (2010). "Effects of Rapid Broadband Trills on Responses to Song Overlapping in Nightingales." *Ethology* 116(4): 300-308.

- Stoddard, P. K., D. E. Kroodsma, et al. (1996). Vocal recognition of neighbors by territorial passerines. In: *Ecology and Evolution of Acoustic Communication in Birds*. Ithaca, New York, Cornell University Press.
- Suthers, R. A. e F. Goller (1997). "Motor correlates of vocal diversity in songbirds." *Current Ornithology* 14: 235-288.
- Todt, D. (1981). "On functions of vocal matching - Effect of counter-replies on song post choice and singing." *Zeitschrift Fur Tierpsychologie-Journal of Comparative Ethology* 57(1): 73-93.
- Todt, D. e M. Naguib (2000). "Vocal interactions in birds: The use of song as a model in communication." *Advances in the Study of Behavior* 29: 247-296.
- Vallet, E., I. Beme, et al. (1998). "Two-note syllables in canary songs elicit high levels of sexual display." *Animal Behaviour* 55: 291-297.
- Vallet, E. e M. Kreutzer (1995). "Female Canaries are sexually responsive to special song phrases " *Animal Behaviour* 49(6): 1603-1610.
- Vehrencamp, S. L., J. Yantachka, et al. (2012). "Trill performance components vary with age, season, and motivation in the banded wren." *Behavioral Ecology and Sociobiology*: 1-11.
- Wallschlager, D. (1980). "Correlation of song frequency and body-weight in passerine birds" *Experientia* 36(4): 412-412.
- Xia, C., J. Liu, et al. (2013). "Is the Soft Song of the Brownish-Flanked Bush Warbler an Aggressive Signal?" *Ethology* 119(8): 653-661.
- Zahavi, A. (1977). "The cost of honesty: Further Remarks on the Handicap Principle." *Journal of Theoretical Biology* 67(3): 603-605.

Anexos

Anexo I. Etograma descritivo das variáveis de comportamento registadas durante a experiência.

Variáveis	Tipo	Descrição
Ameaça	Evento	Indivíduo mostra uma posição mais tensa no qual empina as asas e pode por vezes abrir o bico durante o “playback”.
Aproximação	Evento	Indivíduo aproximou-se ou não em direcção à coluna durante o “playback”. Aqueles que não se aproximaram têm uma latência máxima de 60 segundos.
Latência Aproximação à coluna	Estado	Tempo que a ave demorou para demonstrar a primeira iniciativa de aproximação à coluna durante o “playback”.
“Fly Overs”	Evento	Se o indivíduo voa de poleiro em poleiro, realizando círculos de voo durante o “playback”.
Voar Depois do Playback	Evento	Se o indivíduo mostrou ou não qualquer comportamento de voo no período após o “playback”.
Latência de Movimento	Estado	Tempo que a ave demorou a realizar qualquer tipo de movimento independentemente da direcção que voou (aproximação ou “fly overs”).
Cantar durante o voo	Evento	Se o indivíduo canta durante os “fly overs” ou nos movimentos de aproximação.

Anexo II. Locais das gravações e da origem de cada estímulo dos indivíduos sujeitos a “playbacks” com trilos.

Nº Indivíduo	Nº Estímulo	Origem do Estímulo	Local do Teste
1	7	Arzila	Polo I-Universidade Coimbra
2	9	Arzila	Polo I-Universidade Coimbra
3	10	Arzila	Jardim Botânico
4	11	Arzila	Pereira
5	12	Arzila	Escola Superior Agrária
6	13	Arzila	Escola Superior Agrária
7	14	Arzila	Jardim Botânico
8	15	Arzila	Parque da Cidade
9	16	Arzila	Pereira
10	17	Anobra	Escola Superior Agrária
11	18	Anobra	Escola Superior Agrária
12	19	Anobra	Mata Nacional do Choupal
13	20	Rapoila	Lordemão
14	22	Pereira	Mata Nacional do Choupal
15	23	Pereira	Mata Nacional do Choupal
16	25	Anobra	Parque da Cidade
17	26	Rapoila	Planalto Santa Clara
18	28	Arzila	Lordemão
19	29	Arzila	Planalto Santa Clara
40	1	Arzila	Planalto Santa Clara

Anexo III. Locais das gravações e da origem de cada estímulo dos indivíduos sujeitos a “playbacks” sem trilos.

Nº Indivíduo	Nº Estímulo	Origem do Estímulo	Local do Teste
20	4	Arzila	Jardim Sereia
21	7	Arzila	Polo I Universidade Coimbra
22	9	Arzila	Planalto Santa Clara
23	10	Arzila	Polo I Universidade Coimbra
24	11	Arzila	Escola Superior Agrária
25	12	Arzila	Escola Superior Agrária
26	13	Arzila	Escola Superior Agrária
27	14	Arzila	Jardim Botânico
28	15	Arzila	Pereira
29	16	Arzila	Mata Nacional do Choupal
30	17	Anobra	Mata Nacional do Choupal
31	18	Anobra	Pereira
32	21	Arzila	Pereira
33	20	Rapoila	Lordemão
34	22	Pereira	Mata Nacional do Choupal
35	23	Pereira	Parque da Cidade
36	25	Anobra	Jardim da Sereia
37	26	Rapoila	Jardim Botânico
38	28	Arzila	Planalto de Santa Clara
39	19	Anobra	Lordemão