

Agradecimentos

Queria agradecer a todos que de uma forma ou de outra me ajudaram neste trabalho, tenha sido directa ou indirectamente.

Aos meus Pais porque sem eles não teria sido possível realizar todo o meu percurso académico e esta oportunidade não se teria proporcionado, pela paciência e por todo o carinho.

Aos meus irmão que apesar de não me terem ajudado directamente, o facto de saber que os tenho me deixa mais segura e confiante de tudo.

À Professora Doutora Maria Clara Amorim, por ser minha orientadora, por toda a ajuda, entusiasmo, acompanhamento, incentivo e disponibilidade.

À Professora Doutora Liliana de Sousa, por ser minha co-orientadora, pela simpatia e que apesar de eu ter sido uma desnaturada, sempre se mostrou completamente disponível.

Ao Professor Doutor Paulo Fonseca, por ser meu co-orientador não oficial, resolver todos os problemas, mas principalmente por toda a ajuda, simpatia, acompanhamento e disponibilidade.

À Professora Teresa Modesto e respectivo Centro de Ciências do Mar da Universidade do Algarve pela análise às amostras de sangue.

A todos que trabalharam comigo este tempo todo, Sílvia, Raquel, Joana e Daniel. Por toda a ajuda, confiança, paciência, mas sobretudo pela amizade.

Maninhas obrigado por serem tão especiais...

Ao Sô Chefe, o nosso pescador, por estar sempre disponível para lançar as redes para apanhar xarrocós.

À minha querida vizinha Eduarda que tanto me aturou e que foi muito importante na minha adaptação a uma nova vida. Obrigada pelas conversas, pelos desabafos, pelas dormidas, principalmente por toda a amizade e companhia.

À minha prima Vanda que também foi peça fundamental na minha adaptação, fazendo com que me sentisse perto da família mesmo longe.

A todas as minhas amigas do Porto que nunca me deixaram sozinha mesmo a 300 km de distância e que mostraram que a distância não é barreira para grandes amizades... sei que não preciso dizer nomes porque vocês sabem quem são e como vos adoro.

Ao meu amigo Ulisses que, como não percebe nada disto mas quer saber tudo, me fez imensas perguntas e por isso me obrigava a saber responder a tudo ...

Ao meu querido amigo Heider e ao meu amigo Eurico por tornarem as minhas viagens mais demoradas mas mais descansadas.

RESUMO

Algumas espécies apresentam cuidados aloparentais, i.e., cuidam de crias que não são suas, um comportamento que pode ser inadaptado. No entanto diversos estudos demonstraram que comportamentos aloparentais podem ser adaptativos, por exemplo se um macho com crias for mais atractivo do que um não parental, ou se as suas crias sofrerem menos predação devido a um efeito de diluição. Existem no entanto poucos estudos nesta área, em particular em espécies que exibam várias modalidades sensoriais para a defesa dos ninhos. Este trabalho teve dois objectivos distintos. O primeiro foi estudar o comportamento parental, aloparental e de defesa do ninho no xarroco Lusitano, um peixe que usa tanto sinais acústicos como visuais para defender o ninho de intrusos. Este trabalho englobou também o estudo do papel dos androgénios circulantes no comportamento de defesa do ninho. O segundo objectivo foi o de medir a propagação dos sinais acústicos usados na defesa do ninho com o intuito de poder determinar o alcance de comunicação deste tipo de sinais, sendo estes os sinais prevaletentes na defesa territorial.

Para cumprir o primeiro objectivo, realizaram-se experiências de intrusão em piscinas de 2-3 m de diâmetro. Os residentes pertenciam a três tratamentos ou grupos diferentes, machos parentais com ovos, machos parentais sem ovos e machos aloparentais. Foram feitas três intrusões de 1 hora ao longo de duas semanas, e compararam-se os comportamentos acústicos e agonísticos entre intrusões e entre machos dos diferentes grupos. Foram também comparados os níveis de androgénios entre grupos e a taxa de sobrevivência dos ovos entre parentais, aloparentais e um grupo controlo (ninhos com ovos sem peixes). Não houve diferenças na defesa do ninho entre grupos, o que pode ser explicado pelo nível de androgénios observado ser semelhante. A taxa de sobrevivência dos ovos foi também semelhante entre machos parentais e aloparentais mas significativamente superior à dos ninhos sem peixe, sugerindo que esta espécie presta cuidados aloparentais.

Para cumprir o segundo objectivo, foram colocados hidrofones a diferentes distâncias da fonte sonora no estuário do Tejo. Reproduções de tons puros, funções seno com varrimento em frequência e sirenes de xarroco foram feitas a diferentes alturas de maré, para testar também a influência da altura da coluna de água na atenuação do som. Como esperado, a atenuação aumentou com a redução da profundidade. A propagação de som de baixa frequência em água rasa (<3m) foi particularmente afectada, tendo a componente de 60 Hz, que corresponde aproximadamente à dominante nas sirenes agonísticas, sido atenuada até ao nível do ruído ambiental à mesma distância. Em águas mais profundas, as sirenes sofreram menor atenuação, podendo ser reconhecidas pelo

menos até aos 30 metros de distância. A generalidade das emissões testadas em águas rasas (<3m) não foram detectáveis além dos 8 metros. A atenuação de componentes de baixa frequência em águas rasas (60 Hz) pôde ser melhor descrita pelo modelo de propagação esférica, enquanto a propagação dos componentes de mais elevada frequência testados (entre 2 e 4 Hz) não seguiu nenhum dos dois modelos teóricos. Em águas mais profundas (>3 m) a atenuação de sirenes com frequência dominante acima dos 120 Hz seguiu o modelo de propagação esférica, enquanto a atenuação de sirenes com a dominante a cerca de 60 Hz parece ser melhor aproximada pelo modelo cilíndrico

Palavras-chave: Comportamento aloparental, comportamento territorial, comunicação acústica, propagação acústica, *Halobatrachus didactylus*

ABSTRACT

Some species demonstrate alloparental behaviour, i.e., caring for non-descendant young, a behaviour that can be maladaptive. However several studies have shown that alloparental behaviour can be adaptive, for example if a parental male is more attractive than a non-parental male or if its young suffer less predation due to a dilution effect. Few studies have been carried out in this area, in particular in species that exhibit several sensorial modalities for nest defence. This study had two distinct objectives: (1) to study the parental, alloparental behaviour and nest defence in the Lusitanian toadfish *Halobatrachus didactylus*, a species that uses both acoustic and visual signals to defend its nest from intruders including the role of circulating androgens in nest defence; (2) to measure the propagation of acoustic signals used for nest defence in order to determine the maximum communication range.

Intrusion experiments were carried out in 2-3 meter (diameter) pools. Resident toadfish were tested in three main groups: parental male with eggs, parental males without eggs and alloparental males. Three 1 hour intrusions were carried out during a period of two weeks. Acoustic and visual agonistic behaviour were compared between intrusions and males of the different groups. Androgen levels between groups were compared. The survival rate of eggs parental males, alloparental males and a control group (nests with eggs but without fish) was also compared. No differences were found in nest defence between groups, which can be explained by the androgen levels, as they were similar for all groups. The survival rate of the eggs was also similar between parental and alloparental males but was significantly superior in comparison to nests without fish, suggesting that this species cares for non-descendant eggs.

In order to achieve our second objective, hydrophones were placed at different distances from an underwater speaker in the Tagus estuary. Playbacks of pure tones, sweeps and boatwhistles were performed at different tide heights, in order to test its influence on sound attenuation.

As expected the attenuation increased with decreasing depth. The propagation of low frequency sound in shallow water (<3 m) was particularly affected, since the component of 60 Hz, that is typically the dominant frequency of agonistic boatwhistles, was attenuated to the environmental noise level within the same distance.

In deeper waters, boatwhistles suffered less attenuation and could be recognized up to at least 30 meters away. The majority of emissions tested in shallow waters (<3 m) were not detectable beyond 8 meters.

The attenuation of low frequency components in shallow waters (60 Hz) could be best described by the spherical propagation model, while the propagation of higher frequency

components (between 2 and 4 Hz) followed none of the two theoretical models. In deeper waters (>3 m) the attenuation of boatwhistles with dominant frequencies above 120 Hz followed the spherical spreading model, while the attenuation of the dominant boatwhistles around 60 Hz seems to be better described by the cylindrical model.

Key-words: Alloparental behaviour, territorial behaviour, acoustic communication, acoustic propagation, *Halobatrachus didactylus*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Set-up dos ninhos no estuário.....	26
Figura 2 - Set-up experimental. a) piscinas experimentais mostrando os dois ninhos com os respectivos hidrofones b) recolha de sangue da veia caudal; c) ninho com ovos retirado do estuário; d) programa de análise e quantificação dos sinais acústicos (Cool edit Pro 2.00).	26
Figura 3 - Variação do número total de exibições visuais (escalados e não escalados) entre cada grupo nas três intrusões. Grupo 1 = machos aloparentais; grupo 2 = machos parentais, grupo 3 = machos parentais sem ovos. Os pontos representam médias e as barras de erro intervalos de confiança a 95%.	27
Figura 4 - Variação dos comportamentos visuais entre cada grupo nas três intrusões. Grupo 1 = machos aloparentais; grupo 2 = machos parentais, grupo 3 = machos parentais sem ovos. Os pontos representam médias e as barras de erro intervalos de confiança a 95%.	28
Figura 5 - Variação do número total de sons entre cada grupo nas três intrusões. Grupo 1 = machos aloparentais; grupo 2 = machos parentais, grupo 3 = machos parentais sem ovos. Os pontos representam médias e as barras de erro intervalos de confiança a 95%.	28
Figura 6 - Comparação da percentagem de sobrevivência dos ovos em machos parentais (P), aloparentais (AP) e em ninhos sem peixe (O). Os pontos representam médias e as barras de erro intervalos de confiança a 95%.	29
Figura 7 - Set-up experimental. esquerda - altifalante e os dois primeiros hidrofones foram fixados a uma estrutura de heliaço; direita - hidrofones foram fixados a hastes de aço. 42	
Figura 8 – Atenuação com a distância e a várias alturas da coluna de água da frequência dominante de sirenes com diferentes composições espectrais (frequências dominantes a 60Hz).	44
Figura 9 – Atenuação com a distância e a várias alturas da coluna de água da frequência dominante de sirenes com diferentes composições espectrais (frequências dominantes a 120Hz).	44
Figura 10 – Atenuação com a distância e a várias alturas da coluna de água da frequência dominante de sirenes com diferentes composições espectrais (frequências dominantes a 240Hz).	45
Figura 11 - Atenuação do som a diferentes frequências medido a várias distâncias do altifalante, e comparação com os valores esperados de acordo com dois modelos teóricos (propagação esférica e cilíndrica) para uma altura da coluna de água de 3 m. .46	
Figura 12 - Atenuação do som a diferentes frequências medido a várias distâncias do altifalante, e comparação com os valores esperados de acordo com dois modelos teóricos (propagação esférica e cilíndrica) para uma altura da coluna de água de 5 m. .46	

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Análise das variâncias de medidas repetidas. Comparação de tentativas de intrusão nas três intrusões entre os três grupos.....	27
Tabela 2 – Comparação dos níveis de testosterona (T) e 11 cetotestosterona (11 KT) nos três grupos experimentais (one-way ANOVA).....	29
Tabela 3- Comparação dos níveis de 11 KT entre os grupos experimentais e machos não manipulados experimentalmente (one-way ANOVA).	30

ÍNDICE

CAPÍTULO 1 – Introdução Geral	10
1.1 – Sistemas De Acasalamento E Cuidados Parentais Em Peixes	11
1.2 - Parentalidade E Aloparentalidade	12
1.3 – Comunicação	13
1.4 – O Xarroco Lusitano Como Modelo Para Estudos Comportamentais E De Comunicação Acústica	15
1.5 – Objectivos	16
1.6 - Bibliografia	17
CAPÍTULO 2 - Comportamento parental, aloparental e de defesa territorial no xarroco ..	19
2.1 – Introdução	20
2.2 - Materiais E Métodos	23
2.4 - Discussão	31
2.5 – Bibliografia	33
CAPÍTULO 3 – Propagação dos sinais acústicos de xarroco no habitat natural.....	35
3.1 – Introdução	36
3.2 – Materiais e métodos	40
3.3 – Resultados	43
3.4 - Discussão	46
CAPÍTULO 4 - Considerações Finais.....	51

CAPÍTULO 1 – Introdução Geral

1.1 – SISTEMAS DE ACASALAMENTO E CUIDADOS PARENTAIS EM PEIXES

Os sistemas de acasalamento encontrados no reino animal podem ser classificados em dois grandes grupos, poligâmicos e monogâmicos, sendo o poligâmico o mais frequente (Wilson, 1975). Os sistemas de acasalamento poligâmicos incluem a poliginia, poliandria e promiscuidade. Enquanto na poliginia o macho acasala com várias fêmeas, na poliandria acontece o oposto, i.e., a fêmea acasala com vários machos. Já nos sistemas promíscuos, tanto fêmeas como machos acasalam com vários machos ou fêmeas, respectivamente. Os animais podem ainda estabelecer pares sexuais estáveis, exibindo um sistema de acasalamento monogâmico.

Os sistemas de acasalamento estão relacionados com os recursos necessários para a reprodução, tais como a distribuição espacial de alimento, parceiros sexuais e locais para reprodução (Alcock, 2009). Os machos, em contraste com as fêmeas, podem aumentar o seu sucesso reprodutor acasalando com vários parceiros sexuais, uma vez que exibem um esforço reprodutor muito menor (devido à anisogamia) e por isso uma potencial taxa reprodutiva mais elevada (Andersson, 1994). Consequentemente, de modo a maximizar o acesso a fêmeas, a distribuição dos machos deve ser influenciada pela distribuição espacial das fêmeas, que por sua vez depende da distribuição de recursos necessários para o seu sucesso reprodutor (locais de reprodução e alimento) (Andersson, 1994). Dependendo da distribuição dos recursos necessários à reprodução, os machos podem conseguir acasalar com várias fêmeas através de diferentes estratégias (revisto em Alcock, 2009). Por exemplo, se as fêmeas ou recursos (e.g. locais de postura) se distribuírem em agrupamentos os machos podem defender grupos de fêmeas (poliginia por defesa de fêmeas) ou recursos que lhes permitam atrair várias fêmeas (poliginia por defesa de recursos). Se as fêmeas receptivas estiverem dispersas aleatoriamente então a estratégia mais vantajosa para o macho pode ser competição por ordem de chegada; i.e. o macho que chegar primeiro a uma fêmea tem acesso à mesma.

Em peixes, uma das estratégias mais ancestrais é a promiscuidade uma vez que apresentam, normalmente, fertilização externa (Berglund, 1997). A poliginia também é particularmente comum em peixes teleósteos podendo ser associada à defesa de recursos ou de fêmeas. Este grupo também exhibe sistemas de leques, em que os machos formam agregações e exibem-se em arenas não fornecendo às fêmeas que chegam para acasalar qualquer tipo de recurso para além dos genes (Berglund, 1997; Alcock, 2009). De facto, os sistemas de acasalamento em teleósteos podem ser flexíveis e variados dentro da mesma população, com diferentes indivíduos a adoptar diferentes

táticas (Berglund, 1997), o que torna este taxon particularmente interessante em estudos de ecologia comportamental.

Após o acasalamento, os animais têm ainda que enfrentar a decisão de dar ou não cuidados parentais. Estes são normalmente definidos como um investimento do progenitor para a prole, aumentando o desenvolvimento e a sobrevivência das crias em detrimento da habilidade do progenitor investir em crias futuras (Trivers, 1972). Estes evoluem quando os benefícios de cuidar das crias actuais excedem os custos. Quando existem, são frequentemente exibidos em fêmeas (como nos mamíferos) contribuindo para um esforço reprodutor diferencial entre os sexos, e para a evolução de poliginia (Alcock, 2009). Uma das hipóteses explicativas aceites na literatura para a existência prevalente de cuidados maternos é a hipótese da incerteza da paternidade, que favorece a deserção dos machos e investimento em mais acasalamentos (poliginia) (Alcock, 2009).

Cuidados paternos são, no entanto, frequentemente encontrados em peixes. Este facto pode ser explicado pelo custo dos cuidados serem menores para os machos do que para as fêmeas (Gross & Sargent, 1985). Quando as fêmeas prestam cuidados parentais perdem oportunidades de acasalamento, crescem menos (sendo a fecundidade directamente relacionada com o tamanho neste grupo) e demoram mais tempo a produzir novos ovos uma vez que se alimentam menos e despendem energia nos cuidados. Os machos em contrapartida, já têm muitas vezes que defender um território ou ninho para atrair fêmeas e, por isso, não têm custos acrescidos. Para além disso, a existência de ovos no ninho pode tornar os machos ainda mais atraentes para as fêmeas e contribuir para um aumento do seu sucesso reprodutor (Gross & Sargent, 1985). Em peixes, os cuidados parentais consistem na preparação e defesa dos ninhos ou territórios, em garantir o desenvolvimento, guarda, limpeza e aeração dos ovos e embriões, assim como fornecer o suporte nutricional até se tornarem independentes. Estes exemplos são encontrados quando se trata de cuidados com ovos externos. No entanto, podemos encontrar outras formas de cuidados parentais, tais como incubação bucal e transporte da prole numa bolsa (Gross & Sargent, 1985).

1.2 - PARENTALIDADE E ALOPARENTALIDADE

Como já mencionado, o investimento parental implica a existência de um custo energético por parte do indivíduo que providencia os cuidados parentais, e do benefício expresso num aumento da probabilidade de sobrevivência dos seus descendentes até à idade reprodutiva (Trivers, 1972; Smith & Wootton, 1995). Enquanto que as vantagens

adaptativas da prestação de cuidados parentais à própria prole é óbvia, já a prestação de cuidados a descendentes de outros progenitores pode passar por inadaptada.

No entanto, machos que exibem cuidados aloparentais, têm alguns benefícios no desempenho desta função podendo em muitos casos estes cuidados serem adaptativos. A preferência das fêmeas em desovar em ninhos que já tenham ovos (Taborsky, 1994), efeito de confusão (Taylor, 1958), efeito de diluição (McKaye & McKaye, 1977) e selecção de parentesco (Taborsky, 1984), são alguns exemplos dessas vantagens. Em muitas espécies observa-se o efeito de “ovos no ninho”, em que machos que já tenham ovos nos seus ninhos se tornam mais atractivos para as fêmeas (Conzanz, 1985). O facto de as fêmeas preferirem desovar em ninhos que já tenham ovos está relacionado com a canibalização dos ovos em que, os mais prováveis de serem consumidos são os primeiros e os últimos ovos a serem depositados no ninho (e.g. Unger & Sargent, 1988). Assim, as fêmeas evitam ser as primeiras a desovar num ninho de modo a evitar que os seus ovos sejam canibalizados usufruindo assim de um efeito de diluição (Rohwer, 1978). Se os ovos ou juvenis sofrerem predação e as crias estiverem no meio de outras não relacionadas, o macho pode também usufruir do efeito de diluição e de confusão (Winsenden & Keenleyside, 1994).

Os cuidados parentais em peixes recaem, essencialmente, sob um comportamento anti-predatório de defesa da prole, que requer um grande custo de energia. No entanto, não existem estrangimentos energéticos associados à alimentação da sua prole. Isto dá origem a uma dinâmica de custo-benefício muito diferente da observada em mamíferos e aves, e tem consequências importantes para a evolução dos cuidados aloparentais em peixes como uma solução evolutiva para o problema da predação de ovos (McKaye, 1981).

1.3 – COMUNICAÇÃO

Segundo Myberg (1981), comunicação define o processo pelo qual a informação é transferida entre um emissor e um ou mais receptor(es), com o intuito de serem obtidas, unicamente, vantagens para o emissor.

Os peixes utilizam diferentes sinais comunicativos, sendo eles, visuais, químicos, eléctricos, acústicos e tácteis (Moyle & Cech 2004). Todos estes sinais são usados em contextos agonísticos, reprodutores e de reconhecimento (intra - e inter - específicos). Os sinais acústicos, segundo Zelick *et al.*, (1999), parecem ser os mais vantajosos no meio aquático permitindo uma melhor comunicação a longas distâncias bem como em locais de fraca visibilidade. Apesar das vantagens existentes em comunicar no canal acústico,

existem também vários constrangimentos que dificultam a comunicação acústica no meio aquático. Animais que habitam em oceano aberto podem comunicar com sons de baixa frequência ao longo de vários quilómetros, usufruindo da redução da absorção termodinâmica (abaixo de 0.001 dB/km) e da superior velocidade do som (5 vezes maior) quando comparado com habitats terrestres (Rogers & Cox, 1988).

Muitos peixes teleósteos costeiros enfrentam, no entanto, grandes constrangimentos na propagação do som assim como uma forte atenuação dos seus sons de baixa frequência em águas rasas (Bass & Clark, 2003). Assim, um som produzido próximo do fundo ou à superfície não se propagará tão bem como um produzido a meia água (Fine & Lenhardt, 1983). Para perceber o sistema da comunicação acústica nos animais, é importante determinar como se propaga o som no seu habitat natural uma vez que esta condição influencia, directamente, a comunicação e a manutenção da qualidade do sinal desde o emissor até ao receptor.

O estudo da comunicação acústica em peixes no seu habitat natural enfrenta muitas dificuldades técnicas, justificando assim os poucos trabalhos efectuados nesta área. Devido à pouca investigação existente, existe a ideia errada de que poucas espécies de peixes produzem sons (Zelick *et al.*, 1999). No entanto, os peixes representam provavelmente o maior grupo produtor de sons em vertebrados (Ladich, 2004).

Para que esta comunicação seja possível, existem diferentes mecanismos de produção de som, sendo também os peixes o grupo que apresenta a maior diversidade destes mecanismos nos vertebrados (Ladich & Fine, 2006). Estes mecanismos de produção de som recaem sobre três categorias maiores, sendo elas: a acção hidrodinâmica, que resulta de movimentos das barbatanas, normalmente das peitorais, e gera sons de baixa frequência (Hawkins & Myberg, 1983); a estridulação que produz sons pela fricção de elementos ósseos uns nos outros, como dentes faríngeos e raios das barbatanas, sendo que este mecanismo sónico é muito similar com o que acontece nos insectos (Aiken, 1985) e a contracção de músculos especializados (Hawkins & Myberg, 1983). Este último é o mais comum, e consiste na contracção rápida dos músculos especializados que comprimem e distendem a bexiga natatória, resultando na emissão de sons de baixa frequência. Estes músculos podem ser intrínsecos (com fibras ligadas às paredes da bexiga natatória) ou extrínsecos (originam-se em estruturas como crânio, ou processo vertebral, e inserem-se na bexiga natatória directa ou indirectamente) (Hawkins & Myberg, 1983). As características dos sons produzidos dependem dos mecanismos de produção associados e, ao contrário do que acontece com as aves, a maioria dos peixes apresenta sons de pouca amplitude e modulação na frequência assim como um fraco repertório acústico (a maioria não apresenta mais de 1 ou 2 sons) (Amorim, 2006).

1.4– O XARROCO LUSITANO COMO MODELO PARA ESTUDOS COMPORTAMENTAIS E DE COMUNICAÇÃO ACÚSTICA

Os batrachoidideos têm-se tornado modelos-chave no estudo de comunicação vocal em peixes (Bass & Mckibben, 2003). A produção de sons foi estudada principalmente em quatro espécies desta família: *Opsanus tau* (Winn, 1967), *O. beta* (Thorson & Fine, 2002a), *Halobatrachus didactylus* (dos Santos *et al.*, 2000) e *Porichthys notatus* (Ibara *et al.*, 1983). Nestas espécies os machos e fêmeas produzem tamborilados (grunts) em contextos agonísticos e os machos produzem sirenes (boatwhistles ou hums) para atrair fêmeas para acasalar. Em particular, o xarroco Lusitano (*H. didactylus*) (Bloch & Schneider, 1801) apresenta um repertório invulgarmente grande produzindo ainda coachos (croaks), duplo coachos (double croaks) e tamborilados longos (long grunt train), assim como associações mais complexas como duplos/triplos coachos e/ou sirenes associados a tamborilados longos (Amorim *et al.*, 2008).

Os machos da família Batrachoididae, incluindo o xarroco Lusitano, defendem ninhos debaixo de rochas e atraem as fêmeas para acasalar usando sinais acústicos (as sirenes), até que o tecto do ninho esteja coberto de ovos e embriões (Brantley & Bass, 1994). Fornecem também cuidados parentais cuidando das crias e defendendo o ninho até os embriões serem nadadores-livres. Os machos nidificantes têm assim um acréscimo de dispêndio de energia e oportunidades reduzidas de se alimentarem durante pelo menos 30 dias, que é o tempo necessário para os ovos de cada postura passarem a juvenis com vida livre (Modesto & Canário, 2003a; Vasconcelos *et al.*, 2010).

Estudos efectuados mostram que a sirene, que se pensava ser emitida apenas num contexto reprodutivo, não está restrita unicamente a esse período (Amorim *et al.*, 2010), sendo também emitida num contexto agonístico (Vasconcelos *et al.*, 2010). Embora a sonoridade seja semelhante, estas sirenes apresentam diferenças. No contexto agonístico, comparando ao contexto reprodutivo, as sirenes têm menor modulação de amplitude e frequências dominantes e fundamentais mais baixas, mas a duração e estrutura são semelhantes, com uma fase tonal constituindo a maior parte do sinal (Vasconcelos *et al.*, 2010). Estas diferenças podem estar associadas à distância do receptor, i.e., numa sirene agonística o receptor estará mais perto do emissor do que num contexto de atracção sexual que é feito à distância.

Para além do xarroco ser uma espécie excelente para responder a questões de ecologia comportamental e de comunicação acústica, entre outras, é também uma espécie robusta de fácil manutenção em condições experimentais. Para além disso é abundante e de fácil captura nos sistemas marinhos e salobros e exhibe grande resistência e capacidade de adaptação, tornando-se num excelente modelo de estudo.

1.5– **OBJECTIVOS**

O presente trabalho encontra-se dividido em 2 artigos distintos cujos objectivos principais são os seguintes:

- **Estudar o comportamento parental, aloparental e de defesa territorial no xarroco Lusitano.**

Com este trabalho pretendeu-se averiguar se o xarroco Lusitano presta cuidados aloparentais, comparando comportamentos visuais e acústicos de defesa do ninho e sobrevivência dos ovos em machos parentais e em machos aloparentais. Para além disso, estudou-se os mecanismos fisiológicos (controlados pelos níveis de testosterona e de 11-cetotestosterona) subjacentes a possíveis diferenças no comportamento de defesa dos ninhos em ambos os tipos de macho.

- **Abordar a propagação dos sinais acústicos usados na defesa do ninho**

Este trabalho teve o intuito de determinar o alcance de comunicação do xarroco através de sinais acústicos. Teve assim como objectivo perceber o tipo de atenuação que estes sinais sofrem no meio aquático dependendo de profundidade a que o emissor possa estar, e portanto perceber até que distância é o sinal perceptível pelo receptor.

1.6 - BIBLIOGRAFIA

- Aiken, R.B.(1985). Sound production by aquatic insects. *Biological Reviews* 60, 163-211.
- Amorim, M. C. P. (2006). Diversity of sound production in fish. In *Communication in Fishes*, Vol. I (Ladich, F., Collin, S. P., Moller, P. & Kapoor, B. G., eds), pp. 71–104. *Enfield: Science Publishers*.
- Amorim, M.C.P. & Vasconcelos, R.O. (2008). Variability in the mating calls of the Lusitanian toadfish *Halobatrachus didactylus*: potential cues for individual recognition. *J. Fish Biol*72, 1355–1368.
- Amorim, M.C.P., Simões, J.M., Mendonça, N., Bandarra, N.M., Almada, V.C., Fonseca, P.J. (2010). Lusitanian toadfish song reflects male quality. *The Journal of Experimental Biology* 213, 2997-3004.
- Andersson M (1994) Sexual Selection. *Princeton University Press*, 585 Princeton.
- Bass, A. H., & Clark, C. W. (2003). The Physical Acoustics of Underwater Sound Communication 2, 15-64.
- Bass, A. H. & McKibben, J. R. (2003). Neural mechanisms and behaviors for acoustic communication in teleost fish. *Progress in Neurobiology* 69 (1), 1-26.
- Berglund, A. (1997). Mating systems and sex allocation. In: *Behavioural ecology of teleost fishes* (ed by: Jean-Guy J. Godin) *Oxford University press, Oxford*. pp: 237-265.
- Brantley, R.K., & Bass, A.H.(1994). Alternative male spawning tactics and acoustic signals in the plainfin midshipman fish *Porichthys notatus* Girard (Teleostei, Batrachoididae). *Ethology* 96, 213-232.
- Constanz, G.D. (1985). Alloparental care in the tessellated darter, *Etheostoma olmstedi* (Pisces: Percidae). *Environmental Biology of fishes* 14 (2-3), 175-183.
- dos Santos, M.E., Modesto, T., Matos, R.J., Grober, M.S., Oliveira, R.F. & Canário, A. (2000). Sound production by Lusitanian toadfish, *Halobatrachus didactylus*. *Bioacoustic*10, 309-321.
- Fine, M. L. & Lenhardt, M. L. (1983). Shallow-water propagation of the toadfish mating call. *Comp. Biochem. Physiol* 76 (2), 225-231.
- Gross, M.R. & Sargent, R.C. (1985). The evolution of male and female parental care in fishes. *Amer Zool* 25 (3), 807-822.
- Hawkins, A. & Myberg, A. (1983). Hearing and sound communication underwater. In: Lewis, B. (eds) *Bioacoustics: a comparative approach*. *Academic Press, London*, pp. 347-405.
- Ibara, R., Penny, L., Ebeling, A., Dykhuizen, G. & Cailliet, G. (1983). The mating call of the plainfin midshipman fish, *Porichthys notatus*. In: Noakes, D.; Lindquist, D.; Helfman, G.; Ward, J. (Eds.) *Predators and prey in fishes*, Dr W. Junk Publishers, The Hague, Netherlands, pp.205-212.
- Ladich, F. (2004). Sound Production and Acoustic Communication. In: *The Senses of Fishes. Adaptations for the Reception of Natural Stimuli*. G. van der Emde, J. Mogdans and B.G. Kapoor (eds). *Narosa Publ. House, New Delhi*. pp. 210 - 230.
- Ladich, F. and M. L. Fine. (2006). Sound generating mechanisms in fishes: A unique diversity in vertebrates. In: *Communication in Fishes*, Vol. 1. F. Ladich, S.P. Collin, P. Moller and B.G. Kapoor (eds.). *Science Publishers, Enfield, NH*. pp. 3 – 43.
- McKaye, K.R. (1981). Natural selection and the evolution of interspecific brood care in fishes. pp. 173-183. In: R.D. Alexander & D.W. Tinkle (ed.) *Natural Selection of Social Behavior*, *Chiron, New York*.
- McKaye, K.R. & N.M. McKaye. (1977). Communal care and kidnaping of young by parental cichlids. *Evolution* 31, 674-681.
- Modesto, T. & Canário, V.M. (2003). Morphometric changes and sex steroid levels during the annual reproductive cycle of the lusitanian toadfish, *Halobatrachus didactylus*. *General and Comparative Endocrinology* 131, 220-231.

- Myberg, A.A. (1981). Sound communication and interception in fishes. In: Tavolga, W.N. Popper, A.N., and Fay, R.R (eds.). *Hearing and Sound Communication in Fishes*. pp. 395-426. *New York: Springer*.
- Rogers, P. H., & Cox, H. (1988). Underwater sound as a biological stimulus. *Sensory Biology of Aquatic Animals*, 131-149. New York: Springer.
- Rohwer, S. (1978). Parental cannibalism of offspring and egg raiding as a courtship strategy. In: Wisenden, B. D. (eds). *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9, 45–70. *Kluwer Academic Publishers*.
- Smith, C. and Wootton, R.J. (1995). The costs of parental care in teleost fishes. In: Wisenden, B. D. (eds). *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9, 45–70, *Kluwer Academic Publishers*.
- Taborsky, M. (1984). Broodcare helpers in the cichlid fish *Lamprologus brichardi*: their costs and benefits. In: Wisenden, B. D. (eds). *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9: 45–70, *Kluwer Academic Publishers*.
- Taborsky, M. (1994). Sneakers, satellites and helpers: parasitic and cooperative behavior in fish reproduction. In: Wisenden, B. D. (eds). *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9, 45–70, *Kluwer Academic Publishers*.
- Tavolga, W.N. (1958). Underwater sounds produced by two species of toadfish. *Opsanus tau and Opsanus beta*. *Bull. Mar.Sci. Gulf. Carib.* 8, 278-285
- Taylor, R.J. (1976). Value of clumping to prey and the evolutionary response to ambush predators. In: Wisenden, B. D. (eds). *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9: 45–70, *Kluwer Academic Publishers*.
- Thorson, R. F. & Fine, M. L. (2002). Crepuscular changes in emission rate and parameters of the boatwhistle advertisement call of the gulf toadfish, *Opsanus beta*. *Environ Biol Fish* 63, 321–331.
- Trivers, R.L. (1972). Parental investment and sexual selection. In: Wisenden, B. D. (eds). *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9: 45–70, *Kluwer Academic Publishers*.
- Unger, L.M. & Sargent, R.C. (1988). Alloparental care in the fathead minnow, *Pimephales promelas*: females prefer males with eggs. In: Wisenden, B. D. (eds). *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9, 45–70, *Kluwer Academic Publishers*.
- Vasconcelos, R.O., Simões, J.M., Almada, V.C., Fonseca, P.J. & Amorim, M.C. (2010). Vocal Behavior During Territorial Intrusions in the Lusitanian Toadfish: Boatwhistles Also Function as Territorial 'Keep-Out' Signals. *Ethology* 116, 155–165.
- Wilson, E.O. (1975). *Sociobiology. The new synthesis*. Harvard University Press, Cambridge
- Winn, H.E. (1967). Vocal facilitation and the biological significance of toadfish sounds. In: Tavolga, W.N. (eds). *Marine Bio-Acoustics. Pergamon Press, Oxford, UK*, vol. 2, pp. 283–304.
- Wisenden, B.D. and Keenleyside, M.H.A. (1994) The dilution effect and differential predation following brood adoption in freeranging convict cichlids (*Cichlasoma nigrofasciatum*). *Ethology* 96, 203–212.
- Zelick, R., Mann, D.A., & Popper, A.N. (1999). Acoustic communication in fishes and frogs. In: Fay, R.R. & Popper, A.N. (eds). *Comparative Hearing: Fish and Amphibians*. pp. 363-411. *New York: Springer*.

CAPÍTULO 2 - Comportamento parental, aloparental e de defesa territorial no xarroco

2.1 – INTRODUÇÃO

A teoria clássica prevê que os cuidados parentais devem evoluir quando os benefícios originados pelo aumento de sobrevivência e crescimento das crias sejam maiores do que os custos insurgidos aos progenitores, traduzidos numa diminuição de oportunidades futuras de reprodução (Trivers, 1972). No entanto, uma observação interessante, e não explicada por esta teoria, é o facto de algumas espécies defenderem a prole da qual não são progenitores, exibindo cuidados aloparentais (Bandoli, 2006).

Os cuidados parentais são comuns em peixes teleósteos com fertilização externa (Blumer, 1979). Peixes com ovos no ninho que exibem estes cuidados, são alvos de maior preferência das fêmeas pois revelam uma elevada sobrevivência da prole (e.g. *Cottus bairdi*, Downhower & Brown, 1980). A qualidade dos cuidados parentais pode estar correlacionada com os sinais que as fêmeas recebem no momento da escolha de um macho para desovar. Cuidados parentais incluem “limpar” os ovos com a barbatana dorsal onde se encontram células muco-secretoras que aerificam os ovos e ajudam na prevenção de doenças, remover estas potenciais doenças dos embriões e defender os seus embriões de potenciais predadores (McMillan & Smith, 1974; Smith, 1974).

Também os machos, tal como as fêmeas, parecem preferir ninhos que já contenham ovos. Estes, muitas vezes, desafiam machos que estejam a defender ninhos com ovos em vez de procurarem ninhos sem ovos para atrair as fêmeas. Uma vez vitoriosos, os machos defendem os ovos já presentes no ninho (Unger, 1983). A partir deste momento, estes machos começam a exhibir comportamentos parentais em ovos que não são seus, chamados cuidados aloparentais. Nalgumas espécies, como em *Gasterosteus aculeatus*, chegam a roubar os ovos de outros machos e colocá-los no seu próprio ninho (van den Assem 1967), protegendo-os até à sua eclosão (e.g., Sargent & Gebler, 1980).

Duas hipóteses foram propostas para explicar a evolução dos cuidados aloparentais em peixes: o facto das fêmeas preferirem desovar com machos que já defendem ninhos com ovos (Rohwer, 1978; Constanz, 1985); e dos machos aloparentais sofrerem menor taxa de predação dos seus ovos, diluindo-os com ovos de outros machos (McKaye & McKaye, 1977; Constanz, 1985).

Apesar dos cuidados aloparentais terem potenciais vantagens têm também muitas desvantagens. Desde logo, cuidar de um maior número de ovos requer mais tempo, energia e recursos ao macho. Por outro lado, acasalar em ninhos que já contenham ovos, aumenta a possibilidade infectar os novos ovos com fungos existentes nos já presentes, assim como reduz o espaço para novos ovos (Constanz, 1985). Finalmente, a escolha de um ninho com ovos, por um macho que já fertilizou outros ovos, aumenta o risco de

canibalismo dos ovos que fertilizou e abandonou anteriormente (Manica, 2002), uma vez que alguns machos consomem os ovos infectados para limitar a infecção (Winn, 1958). Canibalismo consiste no comportamento dos machos defensores dos ninhos consumirem alguns ou todos os ovos que estão a proteger (Rohwer, 1978). Este comportamento é frequente em peixes teleósteos (Manica, 2002), e Rohwer (1978) colocou a hipótese do canibalismo ser um investimento no futuro da reprodução, permitindo ao macho defensor do ninho recuperar os custos energéticos aumentando as suas hipóteses de futuras fertilizações. Esta hipótese prevê que os níveis de canibalismo aumentem quando a condição física do macho diminui. No entanto, este comportamento só se tornará uma vantagem se o macho for capaz de diferenciar os seus ovos dos outros, consumindo selectivamente os ovos dos quais não são progenitores. Estudos anteriores mostraram que *Pimephales promelas* tem a capacidade de os diferenciar (Sargent, 1989), no entanto, o esgana-gata (*Gasterosteus aculeatus*) não o consegue fazer (FitzGerald & van Havre, 1987). A distinção dos ovos pode ser feita de várias formas: quimicamente pelo olfacto (Brown & Brown, 1996), e pela posição e idade dos ovos (Sargent, 1989). Em conclusão, apesar de os peixes constituírem um modelo por excelência para o estudo de estratégias de acasalamento e de cuidados parentais e apresentarem uma enorme diversidade de soluções adaptativas, existem no entanto ainda poucos estudos nesta área, nomeadamente na compreensão dos mecanismos fisiológicos subjacentes.

Machos da família Batrachoididae (xarrosos) defendem ninhos na época de reprodução e usam sinais acústicos (as sirenes) para atrair as fêmeas para acasalar, fornecendo posteriormente cuidado parentais durante cerca de 30 dias (por postura) até os juvenis nadarem livremente (Brantley & Bass, 1994). Durante a época de reprodução a competição por ninhos aumenta marcadamente (Amorim *et al.*, 2010) sendo provável a intrusão territorial e substituição de ocupante de ninhos com ovos (Vasconcelos *et al.*, 2010). Uma importante componente da defesa territorial consiste na emissão de sinais acústicos (sirenes agonísticas) que são frequentemente eficazes na expulsão de um intruso (Vasconcelos *et al.*, 2010). Durante o período prolongado de defesa territorial e de cuidados parentais os machos têm oportunidades muito reduzidas de se alimentarem, diminuindo a sua condição ao longo da época de reprodução, tendo no entanto já sido encontrados ovos e embriões nos estômagos de machos nidificantes (Sisneros, 2009). Estes estudos recentes (Sisneros, 2009; Amorim *et al.*, 2010, Vasconcelos *et al.*, 2010) levantam as questões de os xarrosos prestarem cuidados aloparentais ou de canibalizarem os ovos/embriões dos machos que expulsaram do ninho. Os Batrachoidideos têm se tornado modelos fulcrais na área de neurofisiologia e ecologia comportamental (Bass & McKibben, 2003), trazendo a oportunidade de se compreender

melhor as bases comportamentais e fisiológicas do comportamento aloparental em peixes. Neste contexto, os objectivos deste trabalho consistiram em determinar a existência de comportamento aloparental no xarroco lusitano (*Halobatrachus didactylus*) (Bloch & Schneider, 1801) quantificando possíveis diferenças comportamentais na defesa territorial em machos parentais e aloparentais, bem como a sobrevivência diferencial dos ovos. Especificamente, no que diz respeito a comportamento de defesa dos ninhos, quantificou-se tanto os comportamentos agonísticos visuais como os acústicos, uma vez que ambos são importantes na defesa territorial (Vasconcelos *et al.*, 2010). Pretendeu-se ainda averiguar se diferenças fisiológicas, nomeadamente o nível dos androgénios circulantes, poderiam estar na base de possíveis diferenças comportamentais entre machos parentais e aloparentais.

2.2 - MATERIAIS E MÉTODOS

Foram colocados no estuário do Tejo (Portugal, Montijo, Base Aérea nº6, 38°42'N; 8°58'W) ninhos artificiais (dimensões internas: 50 cm comprimento, 30 cm largura e 20 cm altura) em forma de hemicíclindro e fechado numa das pontas, ao longo da zona intertidal (Fig.1). Estes ninhos apenas ficam a descoberto em marés muito baixas na lua cheia e lua nova. Os machos ocuparam espontaneamente os ninhos atraindo as fêmeas com a emissão e sirenes para desovarem (Amorim *et al.*,2010).

Os peixes estudados foram obtidos destes ninhos artificiais e foram mantidos em piscinas (2-3 m de diâmetro e sensivelmente 0.5 metros de altura de água) próximas da zona onde foram recolhidos os animais. A temperatura da água foi mantida por uma rede suportada por umas estacas de madeira que fazia sombra nas piscinas. A renovação da água e limpeza das piscinas foi feita cada dois ou três dias, bombeando a água directamente do estuário para dentro da piscina, passando por um filtro. O ciclo natural de luz foi mantido já que as piscinas estavam ao ar livre.

Todos os peixes retirados dos ninhos artificiais foram medidos (peso e comprimento) e identificados através de cortes nas barbatanas peitorais entre os raios (que não provoca qualquer dor ou ferimento no animal) antes de serem colocados nas piscinas. Os animais estudados tinham 34 cm - 49 cm de comprimento total e 990 g – 2930 g de peso. Os animais não foram alimentados durante o período que estiveram nas piscinas.

Para averiguar a existência de comportamentos aloparentais e estudar os mecanismos fisiológicos subjacentes foi delineada uma experiência de intrusão territorial. Esta teve como objectivo testar diferenças de agressividade na defesa do ninho (comportamento visual e acústico) assim como a sobrevivência dos ovos entre machos territoriais parentais e aloparentais. Para tal usaram-se os seguintes grupos: (1) machos aloparentais colocados em ninhos com ovos de outros progenitores, (2) machos parentais colocados nos seus ninhos com os seus próprios ovos, e (3) um grupo controlo que consistiu em machos parentais colocados em ninhos sem ovos. Realizou-se ainda um controlo extra em que se colocaram ninhos com ovos mas sem peixes para comparar a sobrevivência dos ovos em relação aos ninhos guardados por um macho territorial. Os ovos presentes nos ninhos foram fotografados no início e no fim da experiência (Fig.2c).

As piscinas experimentais eram semelhantes às de stock. Em cada piscina experimental foram colocados dois ninhos distanciados entre si cerca de 0.5 m e colocados a meio da piscina. Os machos experimentais (grupo 1-3) foram colocados nos devidos ninhos e passaram por um período de aclimação de 48 horas antes do início das observações.

Os intrusos foram colocados numa piscina com vários abrigos de forma a também poderem desenvolver um comportamento territorial.

O procedimento experimental foi semelhante ao realizado por Vasconcelos *et al.*, (2010). Um macho (primeiro intruso) foi introduzido dentro da piscina aos 0 minutos, registou-se durante 30 minutos os comportamentos e sons dos residentes e do intruso e, passados os 30 minutos, introduziu-se outro macho (segundo intruso) na piscina e foi registado novamente durante 30 minutos o comportamento destes quatro peixes, ou seja dos dois intrusos e dos dois residentes.

Realizaram-se três intrusões com os mesmos residentes, ao primeiro, quinto e décimo dia após o período de aclimação de modo averiguar mudanças no comportamento de defesa do ninho e a quantificar a sobrevivência dos ovos num período suficientemente longo.

Para a gravação dos sinais acústicos usou-se um hidrofone (High Tech 94 SSQ, Gulfport, MS, USA; frequency range: 30 Hz–6 kHz, 1 dB; voltage sensitivity: –165 dB re. 1 V/IPa) colocado em frente a cada ninho, a uma distância de 10 cm da entrada e do fundo da piscina, pendurados numa vara de madeira colocada por cima dos ninhos (Fig.2a). A gravação dos dois canais foi feita em simultâneo por um computador ligado por um cabo USB a um dispositivo de captura áudio (Edirol UA-25, Roland, Japan; 16 bit, 48 kHz), controlado pelo programa Adobe Audition 2.0 (Adobe Systems Inc., San Jose, CA, USA). O registo comportamental foi descrito por observação visual directa e registo num caderno.

O número de comportamentos visuais dos residentes foi contabilizado. Estes incluem exibições visuais não escaladas (abertura da boca e exibições com extensão das barbatanas peitorais e operculares) e comportamentos escalados (mordidas, confrontos boca a boca). O comportamento dos intrusos incluiu aproximações e tentativas de entrada dos intrusos. Os sinais acústicos foram também analisados e quantificados usando o programa Cool edit Pro 2.00 (©1992-2002 Syntrillium Software Corporation) (Fig.2d). Os ovos no início e no final da experiência (primeira e terceira intrusão) foram contabilizados com ajuda do software Image J 1.43u (National Institute of Health, USA, Java 1.6.0_10 (32-bit) 2040K of 635 MB).

No final da experiência, os machos residentes foram anestesiados com MS222 imediatamente após o final da observação (terceira intrusão) e foi recolhido sangue da veia caudal (Fig.2b) para quantificar os níveis hormonais circulantes de testosterona (T) e 11-cetotestosterona (11-KT). Sempre que possível o sangue foi recolhido em menos de 4 minutos para evitar alterações hormonais significativas. O sangue foi de seguida centrifugado durante 10 minutos a 3500 RPM com uma microcentrifugadora portátil e o

sobrenadante (plasma) foi guardado num eppendorf e congelado. As amostras foram guardadas congeladas no laboratório até serem enviadas para Centro de Ciências do Mar da Universidade do Algarve aonde os níveis de androgénios circulantes foram quantificados com RIAs (radioimmunoassays).

Após retirar o sangue os peixes ficaram a recuperar num alguidar com água do estuário, e só quando estavam completamente recuperados é que foram colocados no estuário, para garantir que não seriam atacados enquanto ainda anestesiados.

No total foram realizadas intrusões em 5 piscinas de parentais sem ovos, 7 parentais com ovos e 6 de aloparentais usando sempre residentes diferentes. De salientar também, que nenhum intruso foi usado 2 vezes no mesmo dia.

Para a análise dos resultados foi usado o programa STATISTICA (v. 9.0, StatSoft, Inc. 2009). Comparou-se os comportamentos (acústicos e visuais) entre intrusões (medidas repetidas) e entre grupos (factor independente com 3 níveis, machos aloparentais, parentais e parentais sem ovos) com uma ANOVA mista. De modo a perceber se o comportamento dos intrusos influenciou os dados obtidos realizaram-se duas ANOVAs mistas semelhantes à anterior, mas com o número de aproximações dos intrusos aos ninhos ou tentativas de intrusão como variáveis dependentes. Uma vez que não houve diferenças significativas do comportamento dos intrusos entre intrusões e entre grupos (ver resultados), pode-se considerar que este não influenciou os resultados da primeira ANOVA mista.

A taxa de sobrevivência dos ovos entre machos aloparentais, machos parentais e ninhos sem ovos foi comparada com uma one-way ANOVA. O nível de androgénios circulantes entre machos aloparentais, parentais e parentais sem ovos foi igualmente comparado com uma one-way ANOVA.



Figura 1 – set-up dos ninhos no estuário.

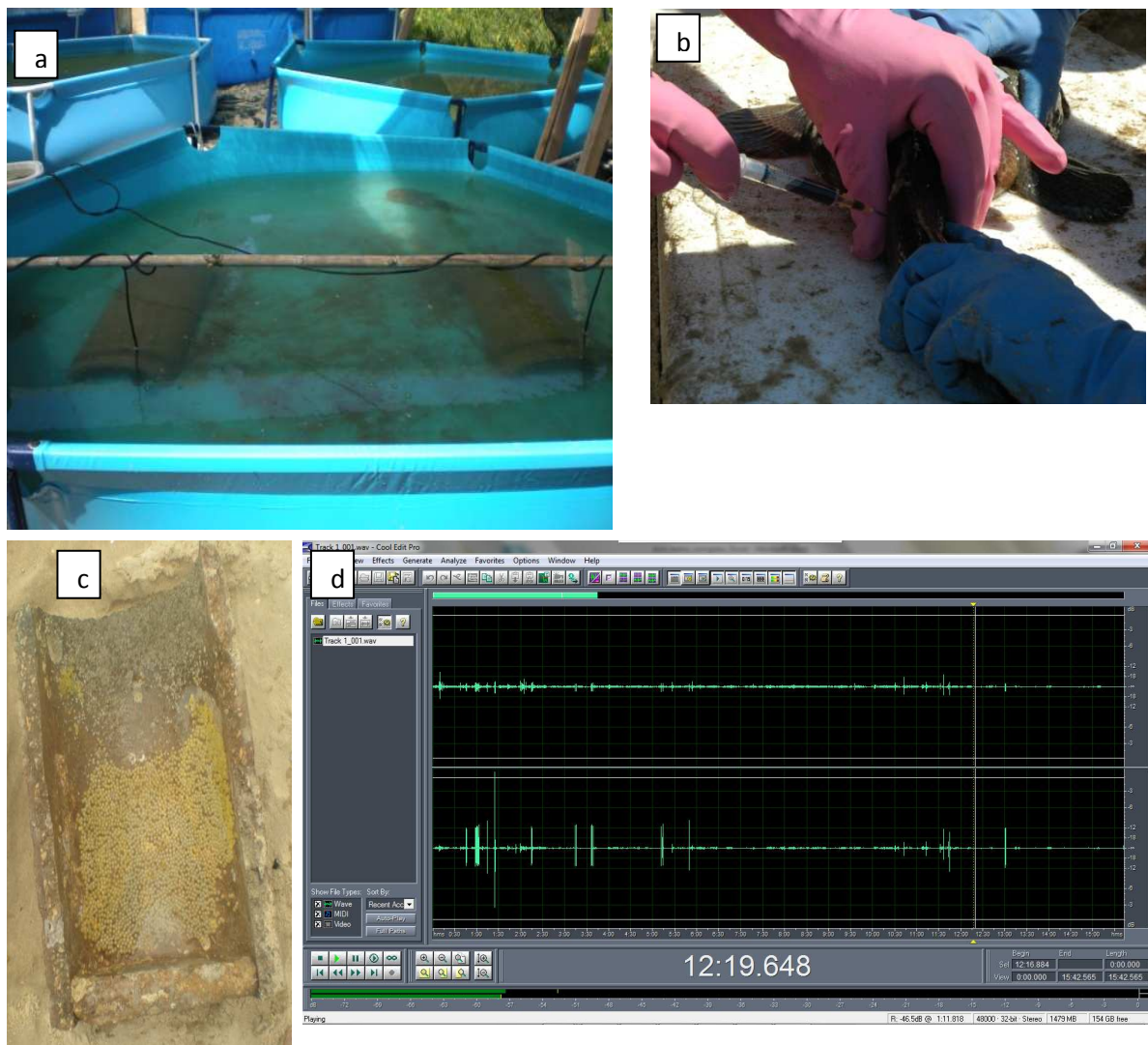


Figura 2 - Set-up experimental. a) piscinas experimentais mostrando os dois ninhos com os respectivos hidrofones b) recolha de sangue da veia caudal; c) ninho com ovos retirado do estuário; d) programa de análise e quantificação dos sinais acústicos (Cool edit Pro 2.00).

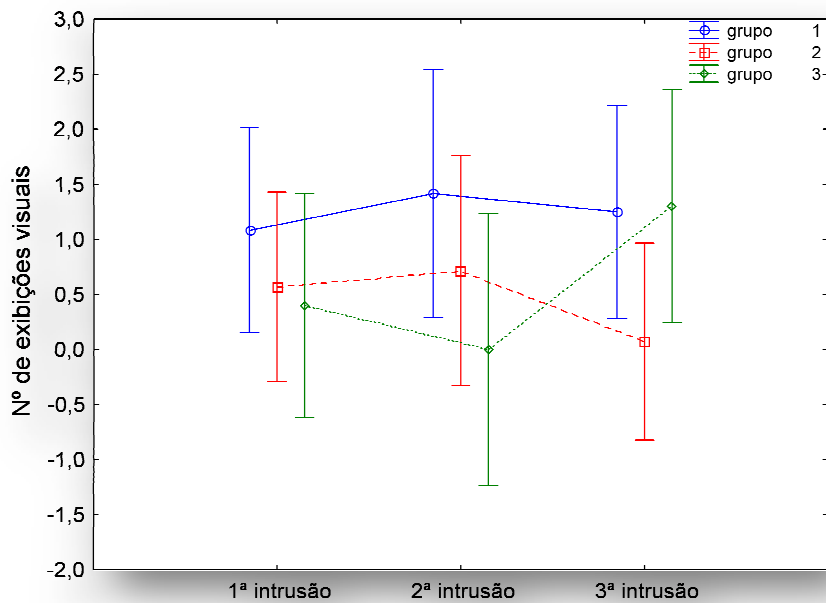
2.3 - RESULTADOS

Não foram encontradas diferenças a nível do comportamento dos intrusos entre grupos ou intrusões (ANOVA mista, grupo: $F_{2,33}=3.05$, $P>0.05$; intrusão: $F_{2,66}=0.15$, $P>0.05$; interacção grupo x intrusão: $F_{4,66}=0.65$, $P>0.05$) pelo que o efeito do comportamento dos intrusos não foi considerado na comparação de comportamento de defesa territorial entre grupos (aloparental, parental e parental sem ovos).

O comportamento de defesa de território foi semelhante, tanto a nível de exibições visuais (comportamentos escalados e não escalados) como de emissão de sons entre grupos e intrusões (Figuras.3 a 5; Tabela 1).

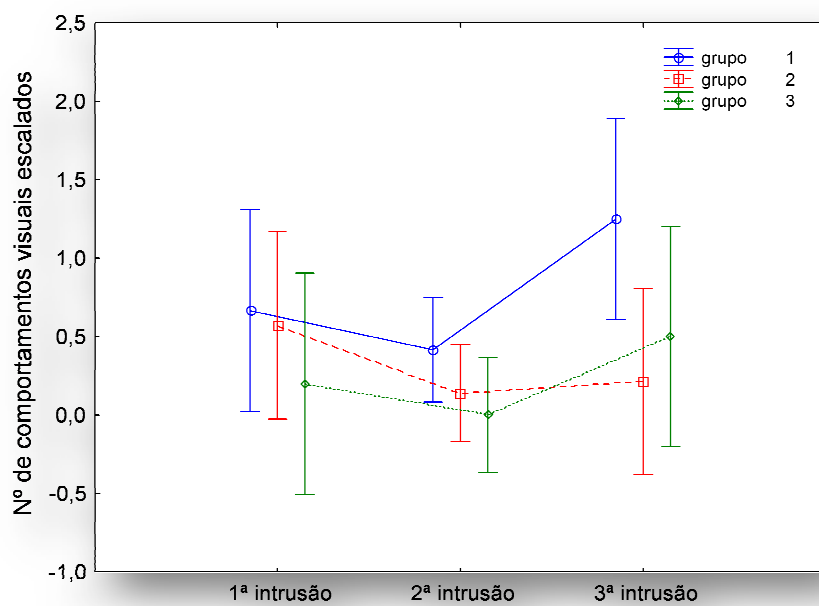
Tabela 1 – Análise das variâncias de medidas repetidas. Comparação de tentativas de intrusão nas três intrusões entre os três grupos.

Var. dependente	visual não escalado			visual escalado			sons totais		
Factores	gl	F	P	gl	F	P	gl	F	P
intrusão	2,33	0.12	P>0.05	2,33	2.35	P>0.05	2,33	0.74	P>0.05
grupo	2,66	2.72	P>0.05	2,66	2.97	P>0.05	2,66	0.88	P>0.05
interacção	4,66	0.98	P>0.05	4,66	0.59	P>0.05	4,66	0.59	P>0.05

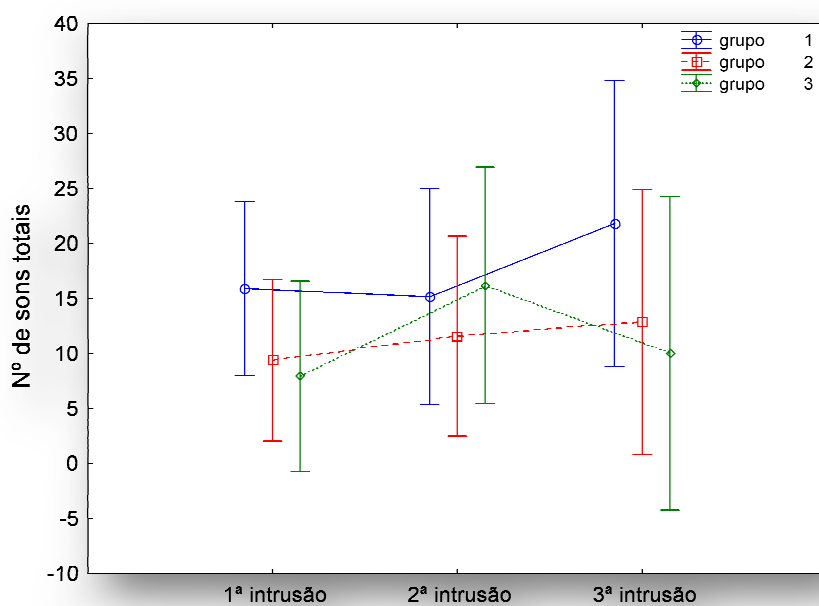


ados)

am

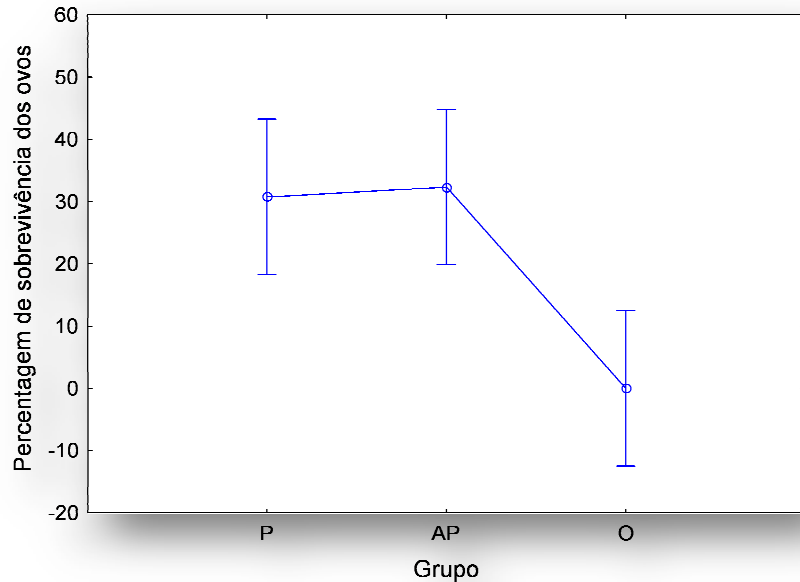


isões.
i
ilos de



s.
i
ilos de

A taxa de sobrevivência dos ovos foi semelhante entre os machos parentais e aloparentais. Sendo no entanto, significativamente superior aos ninhos que apenas continham ovos (one-way ANOVA $F_{2,27}=8,99$, $P<0.05$, Figura.6).



ntam

Não se encontraram diferenças significativas nos níveis de T e 11 KT circulantes entre os machos dos três grupos experimentais (one-way ANOVA,T: $F_{2,14}=3.07$, $P>0.05$; 11KT: $F_{2,14}=1.98$, $P>0.05$) (Tabela 2). Do mesmo modo não se encontraram diferenças significativas nos níveis de 11KT entre os machos experimentais e os machos parentais capturados nos ninhos artificiais, i.e. não manipulados experimentalmente (one-way ANOVA,T: $F_{1,23}=1.58$, $P>0.05$) (Tabela 3).

Tabela 2 – Comparação dos níveis de testosterona (T) e 11 cetotestosterona (11 KT) nos três grupos experimentais (one-way ANOVA).

Factores	gl	F	P
T	2,14	1.98	$P>0.05$
11 KT	1,23	1.58	$P>0.05$

Tabela 3- Comparação dos níveis de 11 KT entre os grupos experimentais e machos não manipulados experimentalmente (one-way ANOVA).

factores	gl	F	P
11 KT	1,23	1.58	P>0.05

2.4 - DISCUSSÃO

Este trabalho mostrou que não parecem existir diferenças no comportamento de defesa territorial entre peixes parentais e aloparentais, tanto nos comportamentos não escalados (exibições visuais e sinais acústicos) como nos escalados (visuais). Isto sugere que a defesa territorial dos machos é feita da mesma forma, independentemente, dos seus ninhos terem ovos dos quais são progenitor ou terem ovos de outros machos. Estes resultados são consistentes com o facto de estes dois grupos não diferirem nos níveis de androgénios circulantes. A testosterona e principalmente a 11 cetotestosterona (androgénio principal em teleósteos) medeiam o comportamento agonístico e de defesa territorial nos peixes (Oliveira & Gonçalves 2008), sendo então expectável que tanto os machos parentais como os aloparentais apresentem comportamento de defesa territorial semelhante. Consistentemente, os machos parentais sem ovos exibiram os mesmos níveis de agressividade e de defesa do ninho do que os primeiros dois grupos (parentais e aloparentais) e não deferiram nos níveis de androgénios circulantes.

O facto dos machos parentais atribuídos aos três grupos experimentais apresentarem níveis de androgénios semelhantes no final da experiência sugere que pelo menos no período em que decorreram as experiências, os machos mantêm o mesmo nível hormonal que tinham anteriormente quando tinham os seus ovos e portanto um comportamento de defesa territorial semelhante. Esta hipótese é corroborada com o facto de os níveis de androgénios dos machos experimentais não diferirem dos níveis encontrados em machos parentais que não foram manipulados. No entanto, o facto de os peixes aloparentais defenderem o ninho de igual modo aos peixes parentais não demonstra que estão a proteger e a cuidar dos seus ovos, podendo só estar a exibir comportamento territorial para atrair posturas futuras.

Em termos de sobrevivência dos ovos os machos aloparentais apresentaram mais uma vez níveis semelhantes aos machos parentais e significativamente superior aos dos ninhos sem machos sugerindo que de facto os peixes aloparentais possam estar a cuidar dos ovos e de uma maneira equivalente ao dos machos parentais. No entanto, não se pode excluir a possibilidade da simples presença do macho poder ter um efeito na sobrevivência dos ovos, quer devido aos movimentos dos peixes que possam aumentar os níveis de aeração não intencionalmente, quer a nível de substâncias que possam ser excretadas pela pele e que protejam os ovos. De facto, o muco de algumas espécies possui propriedades antimicrobianas (Knouft *et al.*, 2003). Dados não publicados revelam que, ovos levados numa rocha para o laboratório desenvolveram fungos, mas com um

tratamento adequado (uso de anti-fungico), esses fungos foram eliminados e os ovos sobreviveram (Knouft *et al.*, 2003).

A baixa taxa de sobrevivência dos ovos pode ser explicada pela falta de alimento disponível. De acordo com estudos realizados, os machos desta espécie diminuem a condição ao longo da época de reprodução (Modesto & Canário, 2003) e por isso seria vantajosa a ingestão dos ovos que são ricos nutritivamente. Outra vantagem de os machos estarem bem nutridos é o facto de só os machos em melhores condições exibirem taxas de canto mais elevados (Amorim *et al.*, in press) que consequentemente, são os que exibem maior sucesso reprodutor (observação pessoal). No entanto, este comportamento de canibalismo só se tornará uma vantagem se o macho for capaz de diferenciar os seus ovos dos outros, consumindo selectivamente os ovos dos quais não são progenitores. Casos como *Pimephales promelas* e do *Gasterosteus aculeatus*, são exemplos de canibalismo e enquanto o primeiro consegue distinguir os seus ovos dos outros (Sargent, 1989) o segundo não é capaz de o fazer (FitzGerald & van Havre, 1987). Concluindo, este estudo sugere que o xarroco Lusitano presta cuidados aloparentais. Trabalhos futuros são necessários para comprovar que a existência de ovos no ninho representa uma vantagem tornando os machos mais atractivos para uma fêmea à procura de local para desovar. É ainda necessário testar se se obtém uma taxa de sobrevivência dos ovos em ninhos sem peixes mas em que lhes é administrado muco dos machos.

2.5 – BIBLIOGRAFIA

- Amorim, M., Simões, J.M., Mendonça, N., Bandarra, N.M., Almada, V.C., Fonseca, P.J. (2010). Lusitanian toadfish song reflects male quality. *The Journal of Experimental Biology* 213, 2997-3004.
- Amorim, M., Simões, Almada, V.C., Fonseca, P.J. (2010). Stereotypy and variation of the mating call in the Lusitanian toadfish, *Halobatrachus didactylus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* (online first).
- Bandoli J.H. (2006). Male spottail darters (*Etheostoma squamiceps*) do not use chemical or positional cues to discriminate between sired and foster eggs. *Behav Ecol Sociobiol* 59, 606–613.
- Blumer. L.S. (1979). Mate parental care in bony fishes. *Quart Rev Biol* 54, 149-161.
- Brantley, R.K., & Bass, A.H. (1994). Alternative male spawning tactics and acoustic signals in the plainfin midshipman fish *Porichthys notatus* Girard (Teleostei, Batrachoididae). *Ethology* 96, 213-232.
- Brown GE, Brown JA (1996) Kin discrimination in salmonids. *Rev Fish Biol Fish* 6, 201–219.
- Constanz, G.D. (1985). Alloparental care in the tessellated darter, *Etheostoma olmstedi* (Pisces: Percidae). *Env. Biol. Fishes* 14, 175–183.
- Downhower. J.F. & Brown, L. (1980). Mate preference of female mottled sculpins, *Cottus bairdi*. *Animal Behaviour* 28, 728-734.
- FitzGerald, G.J. & van Havre, N. (1987). The adaptive significance of cannibalism in stickleback (Gasterosteidae: Pisces). *Behav Ecol Sociobiol* 20, 125–128.
- Knouft, J.H., Page, L.M. & Plewa, M.J. (2003). Antimicrobial egg cleaning by the fringed darter (Perciformes: Percidae: *Etheostoma crossopterum*): implications of a novel component of parental care in fishes. *Proc R Soc Lond., B Biol Sci* 270, 2405–2411.
- Manica, A. (2002) Filial cannibalism in teleost fish. *Biol Rev* 77, 261–277.
- McKaye, K.R. & McKaye, N.M. (1977). Communal care and kidnapping of young by parental cichlids. *Evolution* 31, 674–681.
- McMillan, V.E. & Smith, R.J.F. (1974) Agonistic and reproductive behaviour of the fathead minnow (*Pimephales promelas* Rafinesque). *Z Tierpsychol* 34, 25-58.
- Modesto, T. & Canário, V.M. (2003). Morphometric changes and sex steroid levels during the annual reproductive cycle of the lusitanian toadfish, *Halobatrachus didactylus*. *General and Comparative Endocrinology* 131, 220-231.
- Oliveira, R.F & Gonçalves, D.M. (2008). Hormones and social behaviour of teleost fish. In: C. Magnhagen, V.A. Braithwaite, E. Forsgren & B.G. Kapoor (eds.), *Fish Behaviour*, pp. 61-150. Science Publishers Inc., Enfield, N.H.
- Rohwer, S. (1978). Parental cannibalism of offspring and egg raiding as a courtship strategy. *Am. Nat.* 112, 429–440.
- Sargent, R.C. & Gebler, J.B. (1980). Effects of nest site concealment on hatching success, reproductive success, and paternal behavior of the threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Behav Ecol Sociobiol* 7, 137-142.
- Sargent, R.C. (1989). Alloparental care in the fathead minnow, *Pimephales promelas*: stepfathers discriminate against their adopted eggs. *Behav Ecol Sociobiol* 25, 379–385.
- Sisneros, J. A. (2009). Seasonal plasticity of auditory saccular sensitivity in the vocal plainfin midshipman fish, *Porichthys notatus*. *J. Neurophysiol* 102, 1121-1131.
- Smith, R.J.F. (1974). Effects of 17-methyltestosterone on the dorsal pad and tubercles of fathead minnows (*Pimephales promelas*). *Can J Zool* 52, 1031-1038.

Trivers, R.L. (1972). Parental investment and sexual selection. In: Wisenden, B. D. (eds). *Reviews in Fish Biology and Fisheries* 9, 45–70, *Kluwer Academic Publishers*.

Unger, L.M. (1983). Nest defense by deceit in the fathead minnow, *Pimephales promelas*. *Behav Ecol Sociobiol* 13, 125-130.

Van den Assem, J. (1967) Territory in the three-spine stickleback *Gasterosteus aculeatus* L. *Behaviour* suppl 16, 1–164.

Vasconcelos, R. O., Amorim, M. C. P. & Ladich, F. (2007). Effects of ship noise on the auditory sensitivity and acoustic communication in the Lusitanian toadfish. *The Journal of Experimental Biology* 210, 2104–2112.

Winn, H.E. (1958). Comparative reproductive behavior and ecology of 14 species of darters (Pisces: Percidae). *Ecol Monographs* 28, 156–191.

CAPÍTULO 3 – Propagação dos sinais acústicos de xarroco no habitat natural

3.1 – Introdução

O estudo da comunicação acústica no habitat natural dos peixes enfrenta dificuldades acrescidas, nomeadamente quanto ao registo dos sons e observação dos comportamentos associados, justificando assim o ainda limitado desenvolvimento desta área. Devido aos poucos estudos, permanece a ideia errada de que poucas espécies de peixes produzem sons (Zelick *et al.*, 1999).

As características físicas de qualquer meio que permita a produção de sons são influenciadas por componentes bióticos (incluem relações intra- e inter-específicas) e abióticos (temperatura, salinidade, velocidade de transmissão do som, etc) do meio natural (Bass, 1998).

Embora a energia necessária para emitir sons em meio aquático seja mais elevada do que para animais que comunicam no ar, a transmissão é cerca de cinco vezes mais rápida, determinada pela sua reduzida compressibilidade, isto também suporta uma reduzida atenuação a frequências baixas em meio oceânico. A atenuação varia significativamente com a frequência e pode ser afectada por factores como a temperatura, a salinidade, a pressão ou a profundidade (Beranek, 1988). A propagação depende ainda de outros factores como a topografia e tipo de substrato, a agitação da superfície, características da massa de água (*e.g.* existência de discontinuidades térmicas ou salinas) bem como das posições do emissor e do receptor.

A complexidade do ambiente natural pode influenciar a propagação do som, sendo igualmente condicionantes num processo de comunicação a amplitude do sinal gerado e a sensibilidade do receptor. Uma importante condicionante da comunicação acústica é o ruído ambiental, pois pode mascarar e distorcer o sinal (Myberg, 1990).

Muitos peixes teleósteos vivem em águas rasas, comunicando a profundidades inferiores a 5 metros, onde efeitos significativos da interacção da onda sonora com o fundo e a superfície (Premus & Spiesberger, 1997), bem como, por vezes, o elevado ruído ambiental causado pela dinâmica das ondas na costa, por vento, por chuva ou por sons de natureza biológica, condicionam significativamente a propagação (Myberg, 1990). A combinação da reflexão na superfície e interacção com o fundo condicionadas pela baixa profundidade, a composição do substrato e a absorção termodinâmica de altas frequências resultam num filtro passa-banda de baixa frequência (50-500 Hz, Jensen & Kuperman, 1983).

Em contraste, em águas profundas as maiores fontes de ruído são os terremotos e vulcões, as ondas geradas por ciclos tidais e vento, bem como a turbulência oceânica e os sons emitidos por mamíferos marinhos (Urlick, 1983).

A profundidade é geralmente considerada o factor que mais influencia a frequência de corte do filtro em águas com profundidades inferiores a 100 m (Jensen & Kuperman, 1983) ao que se junta, em águas muito rasas, a característica do substrato (Lugli & Fine, 2003). A uma profundidade constante e sem gradiente de temperatura, o comprimento de onda da frequência de corte varia entre 2 e 4 vezes a profundidade para substratos móveis e rochosos, respectivamente (Bass & Clark, 2003).

Em geral a atenuação do som com a distância pode ser aproximada por um de dois modelos geométricos: 1) propagação esférica, que descreve a atenuação em campo livre ("free field"), num meio homogéneo sem obstáculos, e no campo afastado ("far field"), *i.e.* a uma distância da fonte superior ao comprimento de onda do som (Richardson *et al.*, 1995), em que a energia se dissipa de acordo com uma frente esférica em expansão. Este modelo pode ser representado pela relação $TL = -20 \cdot \log_{10}(r)$ (Richardson *et al.*, 1995) ; e 2) propagação cilíndrica, que descreve a propagação num meio com limite superior e inferior, *e.g.* condicionado por reflexões na superfície e no fundo, e em que a energia se dissipa de acordo com uma frente cilíndrica em expansão (Jensen *et al.*, 1994) e que é representada pela relação $TL = -10 \cdot \log_{10}(r)$ (Richardson *et al.*, 1995). A pressão do som diminui 6 dB e 3 dB por dupla distância ($r=2$), respectivamente para a propagação esférica e cilíndrica (Mann, 2006).

Em águas rasas a propagação de sons gerados na coluna de água ocorre por vezes de acordo com o modelo de propagação cilíndrica devido à proximidade do fundo e da interface ar-água (Mann, 2006).

Muitos peixes desenvolveram mecanismos de audição por vezes associados a especializações morfológicas (Tavolga, 1958). Os principais órgãos responsáveis pela captação de sons, nos peixes, são os otólitos que integram o ouvido interno. Várias estruturas compõem o ouvido interno que se encontra ao nível do crânio, em posição lateral, sendo constituído por vários canais, câmaras e ductos que se encontram cheios de um líquido, a endolinfa. O ouvido interno é constituído por três câmaras principais, *utrículo*, *sacculus* e *lagena*, ligadas por canais semicirculares (Hawkins, 1993). Cada câmara tem um otólito formado por carbonato de cálcio e outros sais inorgânicos e uma matriz proteica, que para além de orientação no campo gravitacional, é sensível à aceleração permitindo assim a detecção de sons. O otólito repousa sobre um epitélio sensorial, a mácula, que contém células ciliadas mecanoreceptoras que traduzem os movimentos relativos do otólito em sinais neurais (Hawkins, 1993).

Podemos assim dividir os peixes teleósteos em três grupos de acordo com a sua sensibilidade auditiva: generalistas, intermédios e especialistas. Os generalistas apenas detectam os sons através do ouvido interno, não possuindo qualquer estrutura envolvida

no processo de audição detectando somente o movimento de partículas associadas às ondas sonoras. Estes apresentam uma sensibilidade auditiva limitada a baixas frequências (100 – 300 Hz) (Gobiidae, *Gobius ninger*; Salmonidae, *Salmon salar*; Pleuronectidae *limanda limanda*; Batrachoididae, *Opsanus tau*) (Ladich, 2004). Os chamados de intermédios, têm maior sensibilidade auditiva, no entanto não possuem estruturas morfológicas especializadas associadas ao ouvido interno. Têm uma gama mais vasta de frequências audíveis que os generalistas revelando um melhoramento na capacidade auditiva devido à proximidade da bexiga natatória ao ouvido interno. São exemplos *Gadus morhua* (Gadidae) e *Stegastes partitus* (Pomacentridae) (Hawkins & Myberg, 1983). Por fim, os especialistas, apresentam estruturas especializadas que ligam uma cavidade com ar, como a bexiga natatória, ao ouvido interno podendo apresentar sensibilidade auditiva até cerca de 3-5 kHz. A captação do som deve-se às flutuações de pressão que resultam na vibração da parede dessa cavidade, sendo rapidamente transmitidas ao ouvido interno. Ou seja, este grupo é sensível tanto à componente cinética do som como à componente de pressão. Exemplos deste grupo são Cyprinidae (carpa, *Cyprinus carpio*) e Holocentridae (*Myrypristis kuntee*) (Hawkins & Myberg, 1983). Batrachoididae é provavelmente a família de peixes mais estudada em termos de aspectos comportamentais e neurofisiológicos na produção (incluindo mecanismos fisiológicos periféricos e centrais na produção de sons) e detecção de sons (Bass & McKibben 2003).

Esta família usa como forma de produção de som a contracção rápida de músculos especializados embebidos na bexiga natatória que a comprimem e estendem, resultando na emissão de sons de baixa frequência (Bass & McKibben 2003).

A produção de sons foi estudada em 4 espécies diferentes: *Opsanus tau* (Winn, 1967), *O. Beta* (Thorson & Fine, 2002a), *Halobatrachus didactylus* (dos Santos *et al.*, 2000) e *Porichthys notatus* (Ibara *et al.*, 1983). Em todas as espécies, ambos os sexos produzem “grunhidos” (grunts) agonísticos, que são sons com pulsos de curta duração, mas só os machos emitem um som de corte (boatwhistles ou hums) que é longo e tonal, para atrair as fêmeas para acasalar (Fine *et al.*, 2001).

A taxa de contracção muscular gera a frequência fundamental do som de corte, que pode exibir uma ou mais harmónicas (Thorson & Fine, 2002a).

O xarroco Lusitano emite sirenes com cerca de 800 ms de duração e uma frequência fundamental de 60 Hz. A frequência dominante encontra-se na segunda ou quarta harmónica (120 e 240 Hz) (Amorim & Vasconcelos 2008). Os machos desta espécie emitem também sirenes num contexto territorial mas neste caso as frequências dominantes correspondem tipicamente à frequência fundamental, i.e. a 60 Hz

(Vasconcelos *et al.*, 2010), podendo assim este sinal ter diferentes alcances de comunicação consoante o contexto social em que é emitido.

Este trabalho teve assim o intuito de determinar o alcance de comunicação do xarroco através de sinais acústicos em profundidades típicas em que os machos nidificantes se encontram. Especificamente, estudou-se o tipo de atenuação que estes sinais e que diferentes frequências sofrem no meio aquático a diferentes alturas de maré. Uma vez que se conhecem os limiares de sensibilidade acústica desta espécie (Vasconcelos *et al.*, 2007) e sabendo qual a propagação que a sirene tem no seu habitat natural, conseguimos determinar o alcance de comunicação do xarroco através de sinais acústicos.

3.2 – MATERIAIS E MÉTODOS

Para estimar o alcance das vocalizações dos peixes é importante determinar, no habitat natural, a atenuação e distorção dos seus sinais com a distância, e comparar estes parâmetros com a sensibilidade auditiva da espécie. É ainda importante avaliar o nível do ruído ambiente, pois este pode condicionar fortemente a distância a que a comunicação é possível.

Caracterização do local de estudo:

O presente estudo foi efectuado no estuário do Tejo (Portugal, Montijo, Base Aérea nº6) em dois locais diferentes, mas contíguos, de forma a permitir medições numa maior gama de profundidades. Medições a profundidades até aos 3 m foram obtidas na praia, tendo sido esta gama alargada até aos 5 m com registos feitos no pontão de encosto de navios desactivado. O substrato nesta região é dominado por sedimentos de granulometria fina (areias finas e vasa), com muitas conchas de ostra e outros bivalves.

Metodologia de registo:

Em cada um dos dois locais foram colocados oito hidrofones de registo (High Tech 94 SSQ, Gulfport, MS, USA; frequency range: 30 Hz–6 kHz, +/- 1 dB; voltage sensitivity: –165 dB re. 1 V/ IPa) e um altifalante para reprodução dos sons a testar (Clark AQ339 *Aquasonic® Underwater speaker*). Os hidrofones foram colocados em linha com o eixo do altifalante, a 10 cm do substrato pois o xarroco é bentónico, e a distâncias de 0,1; 0,5; 1; 2; 4; 8; 16 e 32 metros. Os hidrofones foram fixados a hastes de aço de 12 mm de diâmetro e 50 cm de altura cravadas em bases de betão circular em forma de doma de forma a minimizar possíveis interferências com o sinal. Para reduzir o ruído nos hidrofones causado por vibração provocada pela forte corrente do rio os cabos foram fixados primeiro à haste de aço e depois à base de betão antes de serem conduzidos à superfície. O altifalante e os dois primeiros hidrofones foram fixados a uma estrutura de heliaço mantida fixa no fundo por contrapesos de betão, garantindo um posicionamento preciso dos dois primeiros hidrofones (0.1 e 0.5 m) (Fig.7).

Os diferentes sons testados, gerados num computador portátil (Asus A71SL series, ficheiros .wav, 48 kHz), foram convertidos em sinal analógico (Edirol UA25, conversão D/A a 48 kHz) e amplificados (Blaupunkt GTA 4 special MKII), sendo reproduzidos pelo altifalante subaquático a 50 cm de distância. Os registos dos hidrofones às várias distâncias foram pré-amplificados e digitalizados (M-AUDIO Fast Track® Ultra 8R, conversão A/D a 48 kHz por canal) em simultâneo, e armazenados no disco rígido do

computador. A emissão e registo foram controlados através do programa Adobe Audition versões 1.5 e 3.0, respectivamente. Foram testados diversos sinais de diferentes xarrocos (10 sirenes de chamamento, 15 sirenes agonísticas, 15 tamborilados), funções seno com varrimento em frequência crescente (0-5kHz) e decrescente (5-0 kHz), e vários tons puros (0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25, 0.5, 1, 2 e 3 kHz), a diferentes alturas da maré (0.5; 1 ; 1.5; 2; 2.5 ; 3; 3.5; 4; 4.5; 5 m). Foram registadas 10 repetições de cada som.

Para calibração da resposta dos vários hidrofones, foi feito um registo simultâneo de cada um com um hidrofone de medida (Bruel&Kjær type 8104, frequência de resposta plana de 1Hz a 80 kHz) ligado a um medidor de pressão acústica (Bruel&Kjær Mediator type 2238), utilizando um som gerado com uma função seno com varrimento em frequência (0-5kHz).

As gravações obtidas foram posteriormente analisadas com o programa Adobe audition 1.5 e passaram por várias correcções de forma a incorporar as diferenças quer na resposta em frequência dos vários hidrofones, quer nos ganhos do pré-amplificador, necessariamente diferentes para as várias distâncias de registo.

Correcções para o ganho dos pré-amplificadores e para frequência de resposta dos hidrofones:

Para determinação do ganho de cada um dos canais do M-audio foi registado, com a regulação utilizada no campo, o mesmo sinal eléctrico gerado por uma função seno com varrimento em frequência, seguido do cálculo do espectro de potência médio. Tomando como referência o canal com menor ganho, *i.e.* o canal 1 que recebeu o hidrofone mais perto do altifalante, foi calculada a diferença para cada um dos outros canais. Desta forma foi possível determinar o ganho relativo por canal para qualquer frequência entre 0 e 5 KHz.

A equalização das respostas em frequência dos vários hidrofones foi obtida com um método semelhante. A referência foi agora o espectro médio do som sinusoidal com varrimento em frequência registado com o microfone B&K 8104. A diferença entre a amplitude obtida para uma qualquer frequência de qualquer dos oito hidrofones utilizados nas medições no campo e o valor de referência no registo com o hidrofone de medida representa o valor que é necessário deduzir à medida no campo para corrigir a não linearidade da resposta de cada um dos hidrofones High Tech 94.

Determinação dos valores de atenuação do som com a distância, i.e. avaliação da propagação:

Para cada um dos sons estudados foi então calculado o espectro médio das dez repetições, a cada uma das oito distâncias à fonte sonora (de 0.1 m a 32 m). A este espectro foi deduzido o ganho do pré-amplificador e foi corrigido para a curva de resposta em frequência do respectivo hidrofone. Com estes valores é agora possível seleccionar frequências consideradas relevantes e obter o valor da amplitude do sinal acústico a cada uma das distâncias e profundidades no sentido de avaliar a forma como se propagam no habitat estuarino em que o xarroco nidifica.

Comparação da atenuação do sinal com a predição dos modelos de propagação esférica e cilíndrica, para diferentes profundidades:

O modelo de propagação esférica considera que a atenuação da energia do som com a distância varia de acordo com o aumento da superfície da frente esférica à medida que nos afastamos da origem do sinal, e pode ser representado pela relação:

$$TL = -20 \cdot \log_{10}(r)$$

em que TL representa a atenuação (transmission loss) para uma determinada distância r , *i.e.* o raio da esfera. Este modelo é frequentemente aplicável quando a altura da coluna de água é bastante superior ao comprimento de onda em estudo.

Por vezes, contudo, quer o fundo quer a superfície comportam-se como superfícies reflectoras e a energia dissipa-se com um padrão diferente, de acordo com a expansão de uma frente cilíndrica. Nestes casos a atenuação esperada é menor e pode ser descrita pela relação:

$$TL = -10 \cdot \log_{10}(r)$$

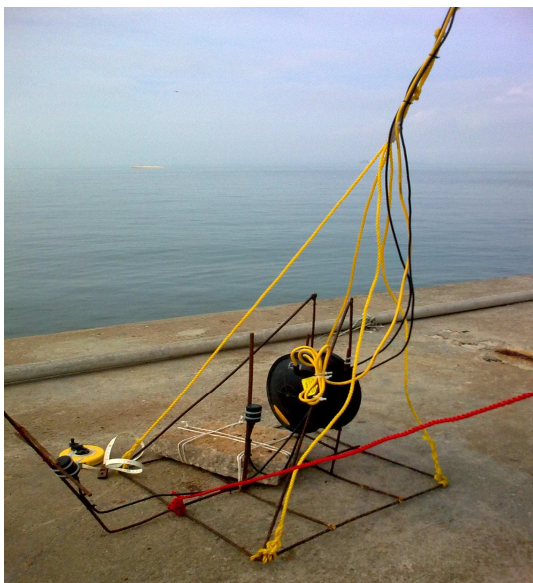


Figura 5 - set-up experimental. esquerda - altifalante e os dois primeiros hidrofones foram fixados a uma estrutura de heliaco; direita - hidrofones foram fixados a hastes de aço.

3.3 – RESULTADOS

Medições da atenuação do som com a distância (até 32 m) foram obtidas para várias alturas da coluna de água, *i.e.* diferentes alturas de maré, de 0.5 m até 5 m em dois locais distintos, praia e pontão.

As figuras 8,9,10 apresentam resultados de medições feitas às frequências dominantes encontradas nas sirenes de xarroco (60, 120 e 240 Hz), a diferentes distâncias da fonte sonora, *i.e.* do altifalante que reproduz o sinal, e com diferentes alturas da coluna de água. Como seria de esperar a frequência mais baixa (60 Hz, Figura 8), com um comprimento de onda da ordem dos 25 m, muito superior à altura da coluna de água, é fortemente atenuada, não se distinguindo do ruído de fundo logo a um metro de distância para uma altura da coluna de água de 1m. À medida que a altura da coluna de água aumenta, o alcance do som a esta frequência também aumenta. No entanto não ultrapassa os 4 m mesmo com maiores profundidades como se verifica à profundidade de 5 m. Estes resultados mostram que as sirenes agonísticas, quando produzidas por animais que nidificam a baixa profundidade, são fortemente atenuadas tendo por isso um alcance muito limitado. É de notar que a perturbação observada na medição a 4m de distância para alturas da coluna de água de 1 e 2 m são provavelmente artefactos devidos a ruído de fundo na altura daquela medição. Alternativamente, mas menos plausível, poderão resultar de interacção construtiva àquela distância.

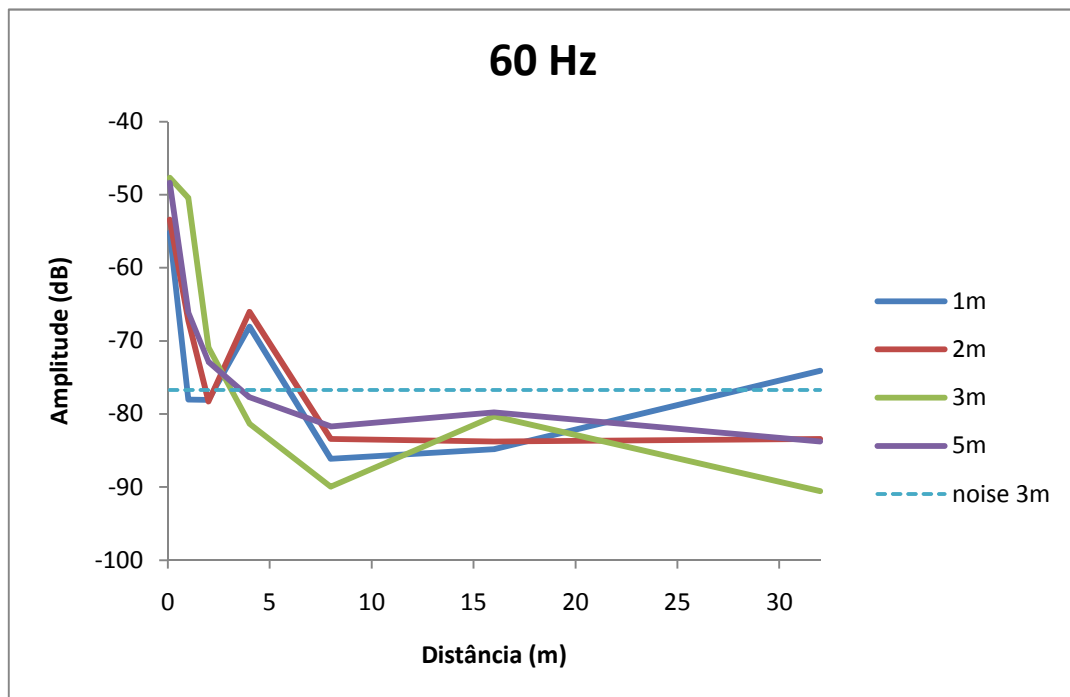


Figura 6 – Atenuação com a distância e a várias alturas da coluna de água da frequência dominante de sirenes com diferentes composições espectrais (frequências dominantes a 60Hz).

Com o aumento da frequência reduz-se consideravelmente a atenuação, aumentando assim o alcance das vocalizações com dominantes a 120 e 240 Hz (Figura 9,10). De notar que o alcance aumenta com a altura de maré e com o aumento da frequência. Assim, a 1 m de profundidade a fusão com o nível de ruído ambiental ocorre entre os 4 m e os 8 m a 120 e 240 Hz, mas com uma altura da coluna de água de 2 m, já só os 60 e os 120 Hz não são detectáveis a 32 m de distância. Desta forma é de esperar que as sirenes utilizadas num contexto de atracção sexual, com frequência fundamental mais elevada (120 e 240 Hz) tenham um alcance bastante superior às produzidas em contexto agonístico.

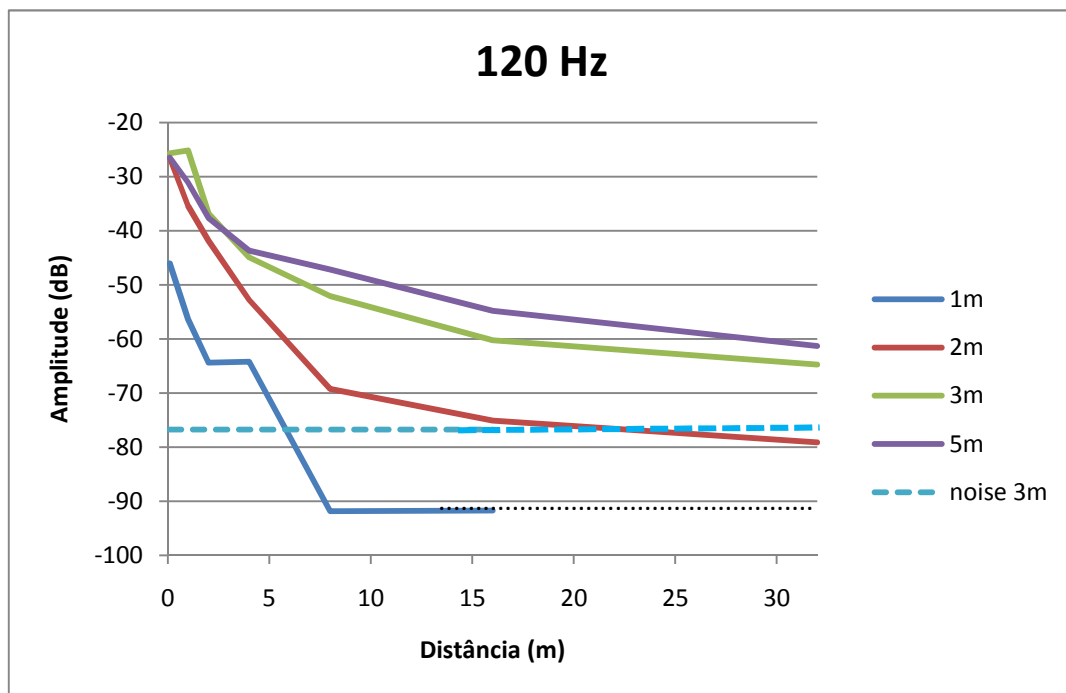


Figura 7 – Atenuação com a distância e a várias alturas da coluna de água da frequência dominante de sirenes com diferentes composições espectrais (frequências dominantes a 120Hz).

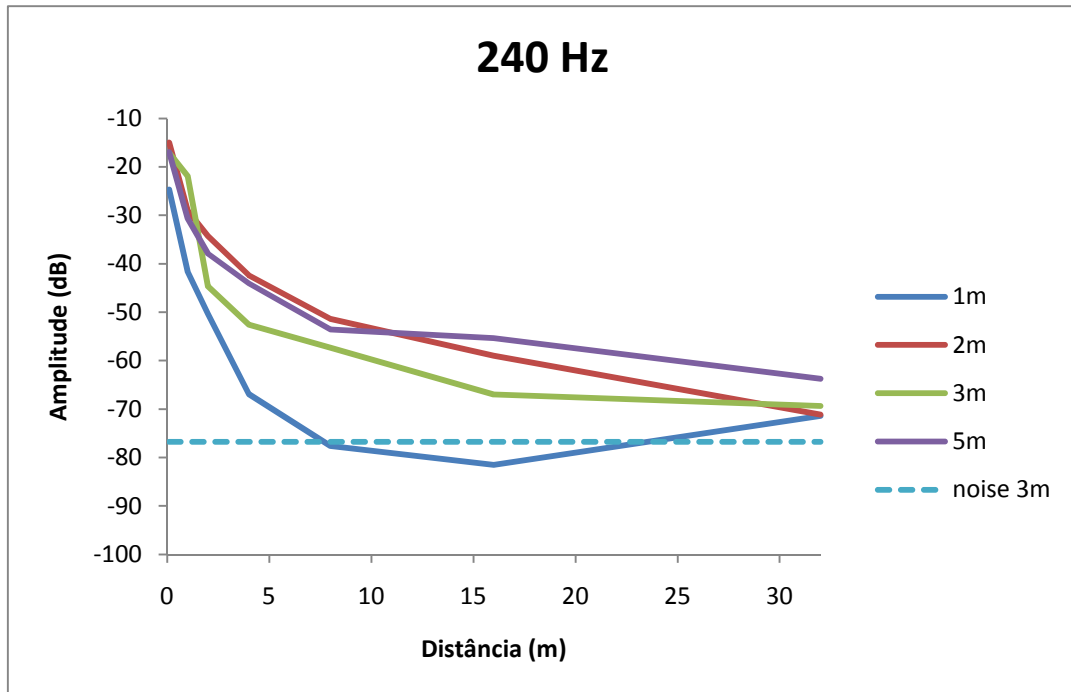


Figura 8 – Atenuação com a distância e a várias alturas da coluna de água da frequência dominante de sirenes com diferentes composições espectrais (frequências dominantes a 240Hz).

A comparação dos valores de atenuação com os preditos por dois modelos geométricos, propagação esférica e cilíndrica, sugerem que nas condições do habitat do estuário onde o estudo foi feito, local de nidificação de muitos xarrocos, a propagação a 120 e 240 Hz se aproximam do modelo de propagação esférico (Figuras 11 e 12), sobretudo quando a altura da coluna de água é mais elevada (5m). De notar ainda que existe atenuação adicional a frequências mais elevadas de 2 e 4 kHz (cf. Figura 11 e 12). Quando a frequência aumenta a atenuação termodinâmica começa a condicionar a propagação, o que pode ser visto nos registos com um aumento significativo da atenuação comparativo ao modelo de propagação esférico e ao que acontece, por exemplo, à frequência de 240 Hz. Finalmente, a frequência de 60 Hz não foi considerada por ser rapidamente atenuada até ao nível do ruído ambiental (cf. Figura 8).

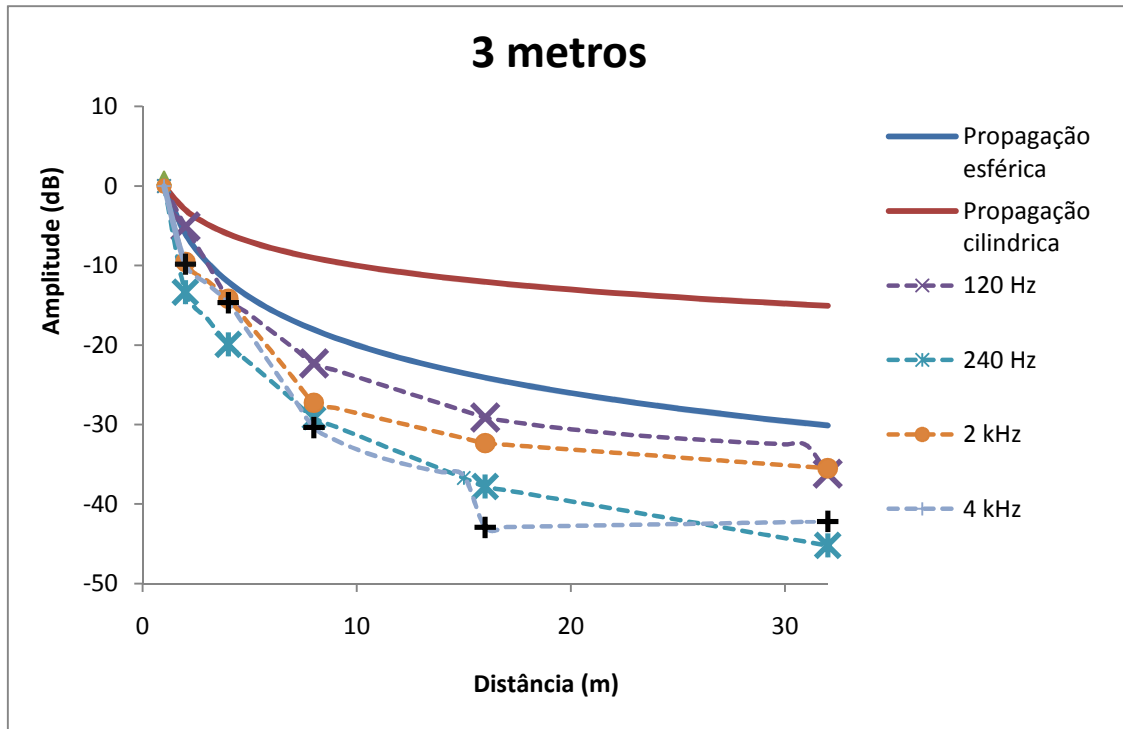


Figura 9 - Atenuação do som a diferentes frequências medido a várias distâncias do altifalante, e comparação com os valores esperados de acordo com dois modelos teóricos (propagação esférica e cilíndrica) para uma altura da coluna de água de 3 m.

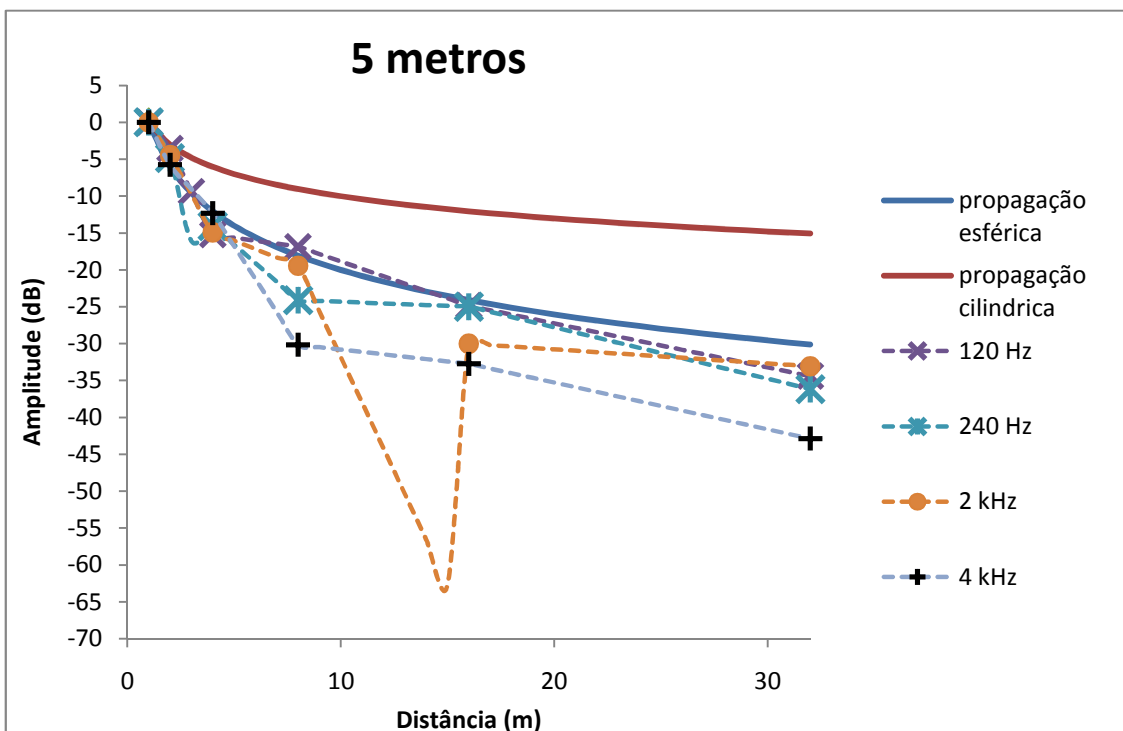


Figura 10 - Atenuação do som a diferentes frequências medido a várias distâncias do altifalante, e comparação com os valores esperados de acordo com dois modelos teóricos (propagação esférica e cilíndrica) para uma altura da coluna de água de 5 m.

3.4 - DISCUSSÃO

Os nossos resultados suportam a ideia que as propriedades acústicas do meio afectam a comunicação animal.

Analisando a fig.8,9 e 10 a perda de transmissão é maior nos primeiros metros e depois tem uma atenuação mais lenta.

A figura 8 mostra-nos que, independentemente da profundidade, a frequência de 60 Hz sofre uma grande atenuação, deixando de ser perceptível, aproximadamente, nos primeiros 4 metros de distância do altifalante tendo uma atenuação de cerca de 30 dB.

No que diz respeito aos 120 Hz (figura 9), observamos a existência de atenuação, no entanto, não tão expressiva como a verificada para 60 Hz. Podemos observar que a esta frequência a profundidade tem uma grande influência na atenuação do som. Quando a maré é muito baixa (1 e 2 m) o sinal acaba por ser mascarado pelo ruído ambiental. Tal como em estudos feitos com tons puros (Fine & Lenhardt, 1983), a perda de transmissão é maior nos primeiros metros sofrendo uma declinação mais lenta nos metros seguintes. No caso do primeiro metro de profundidade, as sirenes agonísticas deixam de ser perceptível a partir dos 6 metros de distância da fonte sonora, enquanto que quando a maré se encontra com 2 metros de profundidade deixa de ser perceptível aos 21 metros de distância da fonte sonora. Nas profundidades seguintes a atenuação não é suficiente a ponto de ser mascarada.

Quando temos uma sirene com uma frequência fundamental de 240 Hz (figura 10), verificamos que a profundidade também exerce influência na atenuação, no entanto, só com um metro de profundidade é que é mascarada e só deixa de ser perceptível por volta dos 8 metros, de distância do altifalante, estando de acordo com o estudo realizado por Tavolga (1964), que conclui que uma frequência fundamental de 250 Hz é perdida a cerca de 10 metros de distância do altifalante quando a uma profundidade de 1m . Em águas mais profundas, as sirenes também sofrem atenuação, no entanto, não é suficiente para ser mascarado pelo ruído ambiente, tal como acontece com frequências fundamentais de 120 Hz.

Segundo Fine and Lenhardt (1983), as baixas frequências propagam-se de forma diferente das altas frequências. Tal pode ser confirmado pelos nossos resultados, em que os 60 Hz são sempre mascarados pelo ruído ambiental independentemente da profundidade e na frequência dos 250 Hz só quando a profundidade é de 1 metro é que a atenuação é suficiente para ser mascarada pelo ruído ambiental.

Podemos também observar que, tal como no estudo com *Opsanus tau*, Fine and Lenhardt (1983), a atenuação da sirene é mais rápida e é perdida acima dos 5 metros da fonte no primeiro metro de profundidade, excepto na frequência dos 60 Hz.

Estudos anteriores indicam que os machos de *H. didactylus* diminuem a taxa de sirenes em marés baixas (Amorim *et al.*, in press), que poderá representar um comportamento adaptativo à enorme atenuação verificada nestes ambientes.

Assumindo águas rasas e calmas, que são comuns nos estuários, a absorção do ruído de fundo parece ser um factor determinante da comunicação à distância. Com estes resultados, podemos afirmar que as altas frequências da sirene são transmitidas até maiores distâncias, reforçando a ideia da influência da profundidade na frequência de corte do filtro.

O segundo grupo de resultados refere-se ao modelo de propagação seguido pelas diferentes frequências das sirenes em diferentes altura de maré. Não incluímos aqui a frequência dominante de 60 Hz tendo em conta o observado nos resultados anteriores, *i.e.*, são mascarados logo nos primeiros metros. Segundo alguns estudos, a propagação dos sons de peixes não é perfeitamente modelada segundo o modelo esférico ou cilíndrico. Em águas muito rasas, o efeito da frequência de corte abaixo da qual o som teoricamente não se propagará é evidente (Lugli & Fine, 2003). Analisando os nossos dados, em águas mais profundas a perda de propagação nas frequências de 120 e 240 Hz seguem o modelo esférico (Figura 12). No entanto, analisando a figura 11, verificamos, também, que as baixas frequências em marés de pouca amplitude, se propagam mais segundo um modelo esférico do que cilíndrico, enquanto que as frequências das sirenes mais altas não seguem nenhum dos dois modelos. Durante as marés altas existe uma extra atenuação em todas as frequências.

Em conclusão, as sirenes agonísticas com a frequência dominante típicas de 60 Hz não se propagam para além dos 5 m independentemente da altura da maré (dentro da gama estudada). No entanto as sirenes de corte com maior energia nas frequências de 120 e 240 Hz, só sofrem as mesmas restrições de propagação (até 5m) quando a maré está baixa (1m de altura), propagando-se até pelo menos 20 m quando a altura de maré é superior a 1 m. Assim, as sirenes de corte que têm a função de atrair as fêmeas à distância só são eficazes quando emitidas em águas com pelo menos 2 m de profundidade.

3.5 - BILIOGRAFIA

- Amorim, M.C.P. & Vasconcelos, R.O. (2008). Variability in the mating calls of the Lusitanian toadfish *Halobatrachus didactylus*: potential cues for individual recognition. *J. Fish Biol*72, 1355–1368.
- Bass, A.H. (1998). Behavioral and evolutionary neurobiology: A pluralistic approach. *Am Zool* 38, 97-107.
- Bass, A. H., & Clark, C. W. (2003). The Physical Acoustics of Underwater Sound Communication. *In: Springer Handbook of Auditory Research*, 2003, Volume 16, 15-64.
- Bass, A. H. & McKibben, J. R. (2003). Neural mechanisms and behaviors for acoustic communication in teleost fish. *Progress in Neurobiology* 69 (1), 1-26.
- Beranek, L.L. (1988). Acoustic Measurements. New York: American Institute of Physics.
- Fine, M.L., Malloy, K.L., King, C.B., Mitchell, S.L. & Cameron, T.M. (2001). Movement and sound generation by the toadfish swimbladder. *J. Comp. Physiol. A* 187, 371-379.
- Hawkins, A.D. & Myberg, A.A. (1983). Hearing and sound communication underwater. *In: Lewis, B. (eds.) Bioacoustics: A comparative approach*. pp.347-405. London: Academic Press.
- Hawkins A.D. (1993). Underwater sound and fish behavior. *In: Tavolga, W.N., Popper, A.N. & Fay, R.R (eds). Hearing Sound Communication in Fish*. Springer-Verlag, New Yourk, NY, pp.109-133.
- Ibara, R.M, Penny, L.T., Ebeling, A.W., van Dykhuizen, & Caillet, G.(1983). The mating call of the plainfin midshipman, *Porichthys notatus*. *In: Tavolga, W.N., Popper, A.N. & Fay, R.R (eds). Hearing Sound Communication in Fish*. Springer-Verlag, New Yourk, NY, pp.109-133.
- Jensen F.B. & Kuperman, W.A.(1983). Optimum frequency of propagation in shallow waters environments. *J. Acoust. Soc. Am.* 73, 813-819.
- Jensen, F.B., Kuperman, W.A. Porter, M.B. & Schmidt, H. (1994). Computational Ocean Acoustics. New York: American Institute of Physics.
- Ladich, F. (2004). Sound production and acoustic communication. *In: Van der Emde G., Mogdans J. & Kapoor B.G. (eds) The senses of fishes. Adaptations for the reception of natural stimuli*. New Delhi: Narosa Publishing House, pp. 210–230.
- Lugli, M. & Fine, M.L.(2003). Acoustic communication in two freshwater gobies: Ambient noise and short range propagation in shallow streams. *J. Acoust. Soc. Amer.* 114, 512-521.
- Mann, D. A. (2006). Propagation of Fish Sounds. *In: Communication in fishes*. Vol. 1 F. Ladich, S.P. Collin, P. Moller., B.G. Kapoor (eds.). *Science Publishers*, Enfield. pp. 107-120.
- Myberg, A.A. Jr. (1990). The effects of man-made noise on the behavior of marine animals. *Environ. Int.* 16, 575-586.
- Premus, V. & Spiesberger, J.L. (1997). Can acoustic multipath explain finback (*B. physalus*) 20 Hz doublets in shallow waters? *J. Acoust. Soc. Am.* 101, 1127-1138.
- Richardson, W.J., Greene, C.R. Jr., Malme, C.I. & Thomson, D.H. (1995). Marine mammals and noise. New York: Academic Press.
- dos Santos, M. E., Modesto, T., Matos, R. J., Grober, M.S., Oliveira, R. F. & Canário, A.(2000). Sound production by the Lusitanian toadfish, *Halobatrachus didactylus*. *Bioacoustics* 10, 309—321.
- Tavolga, W.N. (1958). Underwater sounds produced by two species of toadfish. *Opsanus tau and Opsanus beta*. *Bull. Mar. Sci. Gulf. Carib.* 8, 278-285
- Thorson, R.F. & Fine M.L. (2002). Crepuscular changes in emission rate and parameters of the boatwhistle advertisement call of the gulf toadfish, *Opsanus beta*. *Environ Biol Fish* 63, 321–331.
- Urlick, R.J. (1983). Principles of Underwater Sound, New York: McGraw-Hill.

Urlick, R.J. (1983). Principles of Underwater Sound, New York: McGraw-Hill.

Vasconcelos, R.O., Simões, J.M., Almada, V.C., Fonseca, P.J. & Amorim, M.C. (2010). Vocal Behavior During Territorial Intrusions in the Lusitanian Toadfish: Boatwhistles Also Function as Territorial 'Keep-Out' Signals. *Ethology* 116, 155–165.

Vasconcelos, R.O., Simões, J.M., Almada, V.C., Fonseca, P.J. & Amorim, M.C. (2010). Vocal Behavior During Territorial Intrusions in the Lusitanian Toadfish: Boatwhistles Also Function as Territorial 'Keep-Out' Signals. *Ethology* 116, 155–165.

Winn, H. E. (1967). Vocal facilitation and the biological significance of toadfish Sounds. *In*: Tavolga, W. (ed). *Marine Bio-Acoustics*, vol. 2 Pergamon Press, Oxford, pp. 281—304.

Zelick, R., Mann, D.A. & Popper, A.N. (1999). Acoustic communication in fish and frogs. *In*: Fay,R.R. & Popper,A.N. (eds). *Comparative hearing: fish and amphibians*. New York: Springer-Verlang, pp. 363-411.

CAPÍTULO 4 - Considerações Finais

Apesar de poder ser considerado um comportamento inadaptado, os cuidados aloparentais parecem ser exibidos por diversas espécies de peixes.

A existência de comportamentos de defesa de território e de taxas de sobrevivência de ovos semelhantes sugere que esta espécie presta cuidados aloparentais, i.e., cuidam de crias que não são suas. No entanto não se pode excluir a hipótese de que a simples presença do muco excretado pelos machos tenha sido responsável pela sobrevivência dos ovos nos ninhos tanto parentais como aloparentais. Para percebermos se há de facto cuidados aloparentais poder-se-ia filmar os peixes no ninho, quer parentais quer aloparentais, e observar o seu comportamento de modo a verificar se de facto ambos os grupos prestam cuidados activos aos ovos. Para além disso poder-se-ia administrar muco nos ninhos com ovos mas sem machos e ver se os ovos sobreviveriam mais do que quando não têm macho ou muco presente. Outro passo seria realizar a análise do conteúdo estomacal dos machos parentais e aloparentais para perceber se há ingestão dos ovos que pode ser um indicador de canibalismo ou se a morte verificada nos ovos se deveu por exemplo a infestação de fungos. No caso de ocorrer canibalismo, seria então pertinente tapar as narinas do macho para tentar perceber se este distingue os seus ovos dos restantes, à semelhança do trabalho realizado por Bandoli (2006) em que muda os ovos de ninho a meio das observações de forma a perceber se o macho é capaz de distinguir os seus ovos pela posição onde estão.

Este estudo tentou também perceber se existem alterações fisiológicas e de comportamento territorial quando os machos são separados dos seus ovos e colocados com ovos de outros machos ou colocados em ninhos sem ovos. Perceber os mecanismos fisiológicos aliados aos comportamentos exibidos pelos machos é fundamental para perceber e interpretar as diferenças de comportamentos entre diferentes indivíduos.

O terceiro capítulo deste trabalho está direccionado para a comunicação no meio aquático e seus constrangimentos. Existem poucos estudos realizados sobre esta temática que expliquem como se degrada o sinal neste ambiente. No entanto, esta é uma problemática que merece alguma dedicação já que é de enorme importância saber o alcance de comunicação de uma espécie. Analisando os nossos resultados, percebemos que existe uma grande diferença na atenuação do mesmo sinal dependendo da altura de maré à qual o sinal é emitido. Em águas mais rasas, o sinal tem uma atenuação muito maior, principalmente, se for de baixa frequência. O contrário acontece quando se trata de maiores alturas de maré em que o sinal é perceptível a maiores distâncias, e por isso sofre menor atenuação. No entanto, não só a altura de maré influencia a atenuação do sinal. Como podemos também ver nos nossos resultados, frequências de 120 ou 240 Hz

(frequências dominantes típicas das sirenes de corte) sofrem uma menor atenuação que a frequência fundamental de 60 Hz (frequência dominante típica da sirene agonística). Este tema tem um enorme interesse não só para percebermos o comportamento de um sinal no meio aquático mas também pela enorme influencia que tem no contexto social. Ao ser emitido um sinal, os conspecíficos vão recebê-lo e tirar muitas informações sobre o indivíduo que produziu este sinal. Desde tamanho, condição física, sexo, etc, várias informações podem ser tiradas a partir de um sinal emitido. Por exemplo, se uma fêmea tiver a uma grande distância e só captar um som degradado, a informação pode não ser passada correctamente e a fêmea pode não ser atraída por esse macho. Sendo assim, cruzando dados não publicados, dos limiares de audição das fêmeas com a forma de propagação da sirene do xarroco no meio, seremos capazes de determinar até que distância a sirene é perceptível para a fêmea (sinais de corte) ou para um macho (sinais agonísticos).

Em conclusão, o xarroco é uma espécie que parece prestar cuidados aloparentais sendo no entanto necessários mais estudos para confirmar esta sugestão. Os sinais acústicos, e em particular as sirenes agonísticas, têm um papel prevalecente na defesa territorial e portanto nos cuidados parentais, sendo que só se propagam até um máximo de 3 m em águas rasas. No entanto, estes sinais são trocados a curta distância entre o emissor e o receptor só havendo perda de informação para conspecíficos que se encontrem a uma maior distância.