

U. PORTO



INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS ABEL SALAZAR
UNIVERSIDADE DO PORTO

**O papel da comunicação acústica na escolha de
parceiros sexuais no Góbio de areia (*Pomatoschistus
pictus*)**

Ana Ricou Nunes da Ponte

Dissertação de Mestrado em Ciências do Mar – Recursos Marinhos
- Especialização em Biologia e Ecologia Marinhas

2011

Ana Ricou Nunes da Ponte

**O papel da comunicação acústica na escolha de
parceiros sexuais no Góbio de areia (*Pomatoschistus
pictus*)**

Dissertação de Candidatura ao grau de
Mestre em Ciências do Mar – Recursos
Marinhos - Especialização em Biologia e
Ecologia Marinhas submetida ao Instituto de
Ciências Biomédicas de Abel Salazar da
Universidade do Porto.

Orientador – Doutora Maria Clara Amorim

Categoria – Pós-doc / Professora auxiliar

Afiliação – Instituto Superior de Psicologia
/Universidade Lusófona de Humanidades e
Tecnologia

Co-orientador – Doutor Paulo Fonseca

Categoria – Professor auxiliar com agregação

Afiliação – Faculdade de Ciências da
Universidade de Lisboa/ Centro de Biologia
Ambiental

Agradecimentos

Queria agradecer a todos aqueles que contribuíram directa ou indirectamente para a realização deste trabalho. Foi um período de grande aprendizagem e crescimento!

Aos meus Pais por todos os ensinamentos transmitidos, pelas palavras de apoio, de coragem e de confiança que sempre transmitiram. Obrigada também pela oportunidade que me proporcionaram de realizar este mestrado, bem como todo o meu percurso académico. E sobretudo, obrigada por serem um exemplo a seguir!

À Professora Doutora Maria Clara Amorim pela oportunidade de realizar este trabalho, pela excelente orientação, apoio, simpatia, disponibilidade, pelos seus ensinamentos, críticas, e sugestões durante a realização deste trabalho.

Ao Professor Doutor Paulo Fonseca pelo apoio prestado durante a realização deste trabalho, pelos seus conselhos, pela paciência ao explicar-me como mexer em todos os aparelhos e software, pela disponibilidade e simpatia.

Ao David, por ter estado sempre comigo, fazendo-se sentir, mesmo ao longe. Obrigada pela paciência, ânimo, apoio, amor e carinho que me demonstraste ao longo destes últimos meses. Obrigada por nunca me teres deixado desistir e por me mostrares que era capaz disto e muito mais. Foste essencial! Obrigada por tudo!

Ao Professor Doutor Eduardo Rocha, por toda a ajuda e disponibilidade demonstrada ao longo de todos estes anos de mestrado.

Às minhas irmãs e restante família, por todo o apoio e carinho. Um obrigada especial à minha irmã Rita, pela companhia e apoio durante a estadia em Lisboa.

À Sílvia por me ter ensinado a mexer em tudo naquele laboratório, pela amizade, simpatia, disponibilidade, ajuda e apoio. Obrigada mesmo!

A todos os que trabalharam comigo durante estes meses, Sílvia, Andreia, Marta, Carlotta, Raquel, Joana, Daniel, e Stefania, por me terem acolhido tão bem e por terem tornado este trabalho tão mais divertido. Não poderia ter ido para um grupo melhor. Obrigada!

À Lúcia por teres tornado esta jornada tão melhor! Pela tua boa disposição contagiante, desde o amanhecer ao anoitecer, pela tua amizade, simpatia, por nunca me teres deixado desanimar, pelas gargalhadas, pela companhia, pelas conversas ao adormecer... Obrigada! Tornaste tudo tão melhor, tão mais divertido!!!

A todos os meus amigos em geral, porque sempre estiveram aqui para mim, por toda a coragem, força, amizade, por me encorajarem sempre, por acreditarem em mim, por tudo. Obrigada!! Tenho muita sorte em ter-vos.

À Benedita, porque foi das pessoas que mais me ajudou nesta fase de transição, transmitindo-me sempre a sua energia positiva, não me deixando nunca olhar para os pontos negativos, sempre para os positivos. Por toda a amizade e ânimo que me deste, obrigada! “Bom dia Lisboa”, tu sabes!

À Caracóis, porque estive sempre lá para mim, ouvindo os meus eternos desabafos, mas sempre com uma palavra amiga e um abraço bem apertado! Obrigada pela amizade, carinho e paciência!

Obrigada!!

Resumo

Os sons produzidos por peixes desempenham frequentemente um papel importante na comunicação intraespecífica, podendo ser determinantes para a reprodução. Um bom exemplo de uma espécie vocal é o *Pomatoschistus pictus* (góbio de areia), um pequeno peixe marinho que habita águas pouco profundas com substrato arenoso. Os machos desta espécie são territoriais na época de reprodução e cortejam activamente as fêmeas tentando atraí-las para o ninho para acasalar, prestando também os cuidados parentais aos ovos. Estudos anteriores demonstraram que os machos desta espécie produzem sons durante a corte, e que machos de maiores dimensões apresentam uma maior actividade acústica, produzindo sons mais longos e a taxas mais elevadas.

Este trabalho teve dois objectivos distintos. O primeiro foi testar se a dimensão corporal de machos de *Pomatoschistus pictus* está correlacionada com o seu sucesso reprodutor, recorrendo ao estudo da preferência das fêmeas por machos de diferentes tamanhos, através da avaliação do comportamento das fêmeas e tendo em consideração a taxa de corte e vocalizações dos machos. O segundo objectivo foi testar se os sons emitidos por machos, têm influência na escolha de parceiro sexual pela fêmea, bem como se os machos usam estes sons como pistas sensoriais na competição reprodutiva entre machos. Para tal testou-se, com experiências de *playback*, a preferência a) por sons conspecíficos vs. um controlo (silêncio ou ruído branco), b) por sons emitidos a diferentes taxas (altas vs. baixas), c) bem como com diferentes durações (longos vs. curtos).

Para cumprir o primeiro objectivo, realizaram-se experiências com apresentação às fêmeas de machos com diferentes tamanhos. Os aquários experimentais estavam divididos em três regiões através de partições, tendo sido definidas zonas de resposta com uma largura correspondente ao tamanho aproximado de um peixe desta espécie (5 cm). As fêmeas eram colocadas na área central sendo os compartimentos laterais ocupados por um macho grande e por um macho pequeno, atribuídos aleatoriamente a cada compartimento lateral. A preferência das fêmeas foi avaliada pelo seu tempo de permanência nas zonas de resposta do lado do macho grande ou do pequeno. Quantificou-se também os comportamentos de corte dos machos, incluindo as suas vocalizações, visto que poderiam influenciar a escolha. Não foram encontradas diferenças significativas no tempo que as fêmeas passaram com machos grandes ($\bar{x} \pm DP = 337,0 \pm 257,8$ s) ou pequenos ($\bar{x} \pm DP = 351,7 \pm 217,3$ s), o que sugere que a dimensão do macho não é utilizada pelas fêmeas desta espécie na escolha de parceiros. Os nossos resultados indicam, no entanto, que a intensidade de corte, bem

como as vocalizações produzidas pelos machos, podem ter um papel importante na escolha de parceiro sexual pela fêmea.

Para cumprir o segundo objectivo foram testados machos ou fêmeas nos mesmos aquários experimentais, equipados nas extremidades do aquário com dois dispositivos de reprodução de som que emitiam sinais de corte de machos. A experiência era composta por três fases: 5 minutos de silêncio + 5 minutos de *playbacks* + 5 minutos de silêncio, a fim de se poder comparar o tempo de permanência do peixe-teste em cada uma destas condições. Cada indivíduo foi testado 4 vezes sob diferentes tratamentos: som vs. silêncio; som vs. ruído branco; som a taxa alta vs. som a taxa baixa e sons de longa duração vs. sons de curta duração. As preferências de cada peixe foram novamente avaliadas pelo tempo de permanência em cada zona de resposta. Não foram encontradas diferenças significativas no tempo passado nas zonas de resposta para cada tratamento, tanto para machos como para fêmeas, sugerindo que a resposta a estímulos acústicos poderá estar dependente da motivação do indivíduo (o teste foi realizado no fim da época de reprodução), e/ou que poderá ser necessária a presença adicional de um estímulo visual ou químico.

Palavras chave: *Pomatoschistus pictus*, comunicação acústica, escolha de parceiros, tamanho corporal, *playback*.

Abstract

Sounds produced by fish often play an important role in intra-specific communication and thus may be important for their reproduction. A good example of a vocal specie is the painted goby (*Pomatoschistus pictus*), a small benthic fish that inhabits shallow sandy substrate areas. The males of this species are territorial during the reproductive season and actively court the females in order to attract them to their nests to mate, being the male the responsible for paternal care. Previous studies show that the males produce sounds during courtship interactions, and that larger males produce sounds at a higher rate and with a longer duration.

This work had two distinct objectives. The first was to test if the male body size was correlated with its reproductive success, by studying the preferences of the females relative to males of different sizes, taking in consideration the courtship rate by the males and vocalizations. The second objective was to test if playbacks of male sounds influenced female mate choice and if males used these playback sounds as sensorial clues in reproductive male-male competition. In order to do that, we tested with *playback* experiences the preferences for a) conspecific sounds vs. control (silence or white noise), b) sounds produced at different rates (low rates versus high rates) and c) sounds with different durations (longer or shorter sounds).

In order to achieve the first objective females were presented with males of different sizes. Experimental tanks divided into three regions were used and each region was labeled with response zones that were defined according to the size of this species (5cm). Females were placed in the central area while males (smaller and larger) were randomly attributed to each of the lateral compartment. Female preference was evaluated by the time they spent with each male in the response zone. Male behaviour and vocal activity were recorded and measured to allow female choice to be assessed. No significant differences were found in the time spent by females with larger ($\bar{x} \pm DP = 336,99 \pm 257,82$ seconds) or smaller ($\bar{x} \pm DP = 351,73 \pm 217,33$ seconds) males which suggests that size is not an important parameter in female mate choice. However, our results do suggest that courting intensity as well as the sounds produced by the males, independently of their size, may play a major role in female mate choice.

In order to accomplish the second objective, males and females placed in the central area of the same experimental aquaria were tested with playbacks of male courtship sounds emitted from the lateral compartments by two sound reproduction devices. This experiment was divided in three stages, 5 minutes of silence followed by 5 minutes of playback and by another silent period of 5 minutes, in order to compare the time they

remained in the response zone by each fish in every treatment. Each individual was tested 4 times with different treatments: sound vs. silence; sounds vs. white noise; low rate sound vs. high rate sound and short duration sound vs. long duration sound. Again, fish preference was evaluated by measuring the time spent by the fish in the response areas. Results showed no significant differences in the time spent in the response areas, both by males and females, in any treatment. These results suggest that either these parameters are not of major importance or most likely that individual motivation and multimodal communication (e.g. visual and sound stimuli) may be determinant in eliciting female and male responses.

Key words: *Pomatoschistus pictus*, acoustic communication, mate choice, body length and playback.

Lista de figuras

Fig.1- Ouvido interno de um peixe teleósteo (perca). Vista mediana à esquerda e vista lateral à direita. AC, HC, PC, canais semicirculares anterior, horizontal e posterior; L, lagena; LO, otólito da lagena; MN, macula neglecta; MU, epitélio utricular; MS, epitélio sacular; N, oitavo nervo craniano; S, sáculo; SO, otólito do saculo; UO, otólito do utriculo (Popper & Schilt, 2008).

Fig.2 - Desenho esquemático da relação entre o ouvido interno e a bexiga-natatória em diferentes espécies. a) Não há ligação entre bexiga-natatória e ouvido interno; b) A bexiga-natatória projecta-se para a frente e contacta com o ouvido interno; c) Condição de um peixe otofiseo onde uma série de ossículos ligam o ouvido interno com a bexiga-natatória; d) Condição especial onde existe uma bolha de gás secundária perto do ouvido interno (anabantídeos, clupeídeos e mormirídeos) (Ladich & Popper, 2004).

Fig. 3 – Imagem de um exemplar da espécie *Pomasthoschistus pictus*.

Fig. 4 - Mapa de distribuição da espécie *Pomasthoschistus pictus*.

Fig. 5 - Exemplos de sons produzidos por machos da espécie *Pomatoschistus pictus*. Oscilograma e espectograma a) de um conjunto de *thumps* e b) de um conjunto de *drums*.

Fig. 6- a) Localização dos locais de colheita da espécie (Parede e Portinho da Arrábida); b) aquários “stock”; c) método de colheita dos peixes usando redes de mão.

Fig. 7 – Representação esquemática dos tanques experimentais com a indicação das zonas de resposta.

Fig.8 - Ninho desenhado especialmente de forma a permitir a colocação do hidrofone (Ilustração por Marta Bolgan).

Fig. 9 - Vista lateral e frontal do dispositivo subaquático para reprodução do som (“Fishtalk”)

Lista de tabelas

Tabela1 - Exemplos de características preferidas dos machos pelas fêmeas de diversas espécies de peixes. Adaptado de Gonçalves-de-Freitas *et al.*, 2009.

Tabela 2 - Correlação de Spearman entre o tempo passado com o macho grande (N=21) e possíveis factores que influenciam a escolha da fêmea. r- Coeficiente de correlação de Spearman.

Tabela 3 - Correlação entre tempo passado com macho pequeno (N=21) e possíveis factores que influenciam a escolha da fêmea. r- Coeficiente de correlação de Spearman.

Tabela 4 - Correlação entre o tempo passado com o macho preferido (N=21) e diversos factores. r- Coeficiente de correlação de Spearman.

Tabela 5 - Relação entre os sons produzidos por machos e o tempo que a fêmea permaneceu junto a cada macho

Tabela 6 - Tempo médio que fêmeas passaram nas 2 zonas de resposta face a diferentes tratamentos e nos diferentes momentos da experiência (pré, pbk, pós).

Tabela 7 - Tempo médio que machos passaram nas 2 zonas de resposta face a diferentes tratamentos e nos diferentes momentos da experiência (pré; pbk; pós).

Tabela 8 - Resultados do teste de Friedman relativos aos *playbacks* com machos e fêmeas. GL- graus de liberdade; X^2 - qui-quadrado.

Índice

Agradecimentos.....	i
Resumo	iii
Abstract	v
Lista de figuras	vii
Lista de tabelas.....	viii
Capítulo I. Introdução geral.....	1
1.1. Seleção sexual.....	2
1.2. Comunicação durante a escolha de parceiro sexual em peixes	4
1.3. Comunicação acústica em peixes.....	5
1.4. Audição em peixes.....	7
1.5. Família Gobiidae.....	10
1.5.1. <i>Pomatoschistus pictus</i> (Malm, 1865): o góbio de areia	11
1.6. Objectivos	14
1.7. Bibliografia	15
Capítulo II. Escolha de parceiros sexuais pelas fêmeas de góbio de areia (<i>Pomatoschistus pictus</i>): O papel da dimensão corporal do macho e intensidade de corte.....	22
2.1. Introdução.....	23
2.2. Métodos.....	26
2.3. Resultados.....	32
2.4. Discussão	36
2.5. Bibliografia	39
Capítulo III. O papel da comunicação acústica na seleção sexual no góbio de areia, <i>Pomatoschistus pictus</i>.	43
3.1. Introdução.....	44
3.2. Métodos.....	47
3.3. Resultados.....	50
3.4. Discussão	52
3.5. Bibliografia	54
Capítulo IV. Considerações finais	58
4.1. Considerações finais.....	59
4.2. Bibliografia.....	61

Capítulo I. Introdução geral

1.1. Selecção sexual

A selecção sexual ocorre quando há competição por parceiros sexuais gerando sucessos reprodutivos diferenciais entre indivíduos de uma população. Para que isto ocorra é necessário que os recursos (parceiros sexuais) sejam escassos e que haja uma variação fenotípica (e genotípica) associada a benefícios diferenciais; ou seja, escolher deve ser compensatório. Assim, a selecção sexual pode ser definida como uma variação no sucesso reprodutivo decorrente da variação no número de parceiros sexuais obtidos (Wade, 1979). Segundo Summers (1992), uma forma mais completa de definir selecção sexual seria: um processo pelo qual indivíduos mais bem-sucedidos em seleccionar, atrair e competir por parceiros, alcançam maior sucesso reprodutivo do que aqueles que são menos bem-sucedidos. Selecção sexual pode também ser considerada como uma força selectiva fundamental na evolução do comportamento social, pois ela é capaz de afectar uma série de fenómenos biológicos como o grau de cuidado parental e de dimorfismo sexual, o tipo de sistema de acasalamento, a idade para a maturação sexual, a variação na proporção entre os sexos, etc (Howard, 1980; Zahavi & Zahavi, 1997; Miller, 2001). De acordo com Darwin, a selecção sexual pode actuar de duas formas:

- 1) Favorecendo a capacidade dos indivíduos de um sexo, normalmente machos, para competirem directamente entre si pela obtenção de fertilizações. Este tipo de selecção, normalmente designada por intra-sexual, pode levar à evolução de caracteres tais como “armas” ou grande tamanho corporal;
- 2) Promovendo a elaboração de traços/ornamentos num dos sexos, geralmente no macho, para atrair o outro sexo, normalmente a fêmea. Este processo é usualmente designado por selecção inter-sexual, uma vez que a preferência das fêmeas pode levar à evolução rápida e divergente de determinadas características sexuais secundárias nos machos (Andersson & Iwasa, 1996). A selecção inter-sexual pode levar ao desenvolvimento de ornamentos, tais como a cauda do pavão ou exibições de corte (Svensson, 2004).

De acordo com a teoria de selecção sexual, as decisões reprodutivas devem maximizar o *fitness* individual. Apesar de machos e fêmeas contribuírem igualmente para o *pool* genético da prole, o investimento energético da fêmea é usualmente maior do que o do macho (Andersson & Simmons, 2006), uma vez que as fêmeas produzem óvulos grandes e nutritivos, enquanto os machos produzem milhares de espermatozóides pequenos e de muito menor conteúdo energético. Assim o sucesso reprodutor dos machos está limitado pelo número de acasalamentos enquanto que o das fêmeas pelo número de óvulos que consegue produzir. Isto explica porque a escolha de parceiros é menos pronunciada em machos do que em fêmeas. Tendo em conta que as fêmeas investem mais energia na

reprodução, estas devem seleccionar parceiros que forneçam benefícios materiais, e/ou bons machos em termos de qualidade genética para a sobrevivência da prole, de forma a melhorar o seu *fitness* (Andersson, 1994).

As fêmeas podem seleccionar os machos através de benefícios materiais directos, como a qualidade do território, a alimentação nupcial, ou cuidados parentais (Andersson, 1994). Quando não existem benefícios materiais, a fêmea pode seleccionar os melhores machos com base em determinadas características, como o tamanho corporal, a intensidade de corte, ou a intensidade de coloração nupcial, que podem ser indicadores da qualidade do macho, como por exemplo do seu estatuto social e, conseqüentemente da capacidade de excluir agressivamente potenciais predadores de ovos do território. Adicionalmente, a transmissão de doenças e parasitas pode ser evitada pela escolha de um macho saudável.

Alguns caracteres elaborados evoluíram através da competição macho-macho. No entanto, muitos traços ornamentais evoluíram, certamente, pela selecção das fêmeas por machos que garantam a obtenção de benefícios genéticos para a descendência. As fêmeas podem escolher com base em características fenotípicas dos machos, incluindo posturas de corte, coloração nupcial, ornamentos, feromonas, tamanho corporal e qualidade de território (Andersson, 1994; Barbosa & Magurran, 2006; Fagundes *et al.*, 2007; Ahnesjo *et al.*, 2008; Labonne *et al.*, 2009). Todos estes parâmetros são fontes de informação da qualidade do macho, que atraem as fêmeas e que podem aumentar o sucesso reprodutivo da fêmea. Por outro lado, as fêmeas ao acasalarem com machos mais ornamentados, que indicarão a presença de genes superiores, passarão à descendência estes genes que poderão aumentar a viabilidade e/ou fecundidade da descendência (Kodric-Brown, 1990).

Existem diferentes hipóteses para explicar a ornamentação exagerada dos machos. Fisher (1930) sugeriu que por um processo de deriva genética reforçado, que leva a uma ornamentação mais extrema nos machos e a fêmeas mais selectivas, os ornamentos dos machos surgiram apenas porque serão mais atractivos para as fêmeas. Por outro lado, Zahavi (1975;1977) argumentou que, caso estes ornamentos sejam uma menos valia para a sobrevivência diária (e.g. a cauda do pavão), a escolha pelas fêmeas assente nestes caracteres deverá permitir uma avaliação segura da qualidade do macho pela sua elevada capacidade de sobrevivência (teoria do “handicap”). Se a característica for hereditária, esta será passada para a descendência e então as fêmeas escolherão bons genes se preferirem machos que exibam sinais honestos da sua qualidade genética (Svensson, 2004). Existem benefícios indirectos na escolha de “bons genes” (Andersson, 1994) e “filhos *sexys*” (Weatherhead & Robertson, 1979). De ambas as formas, os traços dos pais são herdados pela descendência, e podem tanto aumentar as hipóteses de

sobrevivência (teoria dos bons genes) como a oportunidade de se reproduzir (teoria dos filhos sexys) (Barbosa & Magurran 2006).

1.2. Comunicação durante a escolha de parceiro sexual em peixes

Tal como noutros *taxa*, os peixes teleósteos dependem da comunicação para sobreviverem e para se reproduzirem. Quase todos os autores concordam que a comunicação envolve a passagem de informação de um emissor para um receptor, e o uso subsequente da informação por parte do receptor na decisão da resposta. O veículo pelo qual a informação se transmite é chamado de sinal (Bradbury & Vehrencamp, 1998). A selecção de parceiros sexuais envolve a troca de sinais recebidos por canais sensoriais diferentes, dependendo do ambiente e das adaptações sensoriais. A maioria dos estudos de comunicação sexual incidem sobre informação visual, provavelmente porque estes sinais são os primeiros a atrair a atenção. De facto, a visão é uma modalidade sensorial muito importante para a comunicação em peixes, mas não a mais importante (Gianquinto & Volpato, 1997; Rosenthal & Lobel, 2006). Além disso, o sexo oposto pode avaliar mais do que uma modalidade sensorial no conjunto de informação disponível. A comunicação visual pode ser útil na avaliação da cor, do tamanho, das características do ninho, da qualidade de território e corte. Os comportamentos visuais de corte têm um papel fulcral no acasalamento, podendo aumentar a receptividade do parceiro e ajudar a sincronizar a fertilização dos gâmetas. Por exemplo, nas tilápias do Nilo, *Oreochromis niloticus*, a desova ocorre mesmo quando machos e fêmeas estão separados por um vidro transparente, sem contacto químico ou físico (Castro *et al.*, 2009).

A comunicação química desempenha também um papel importante. Os sinais químicos estão envolvidos nos processos comunicativos durante o acasalamento em diversas espécies de peixes (Gonçalves de Freitas *et al.*, 2008). Alguns autores demonstraram a importância da comunicação química, por exemplo, na escolha de parceiro sexual. Almeida *et al.* (2005) mostrou que o macho de *Oreochromis mossambicus* liberta pulsos de urina na presença da fêmea. Estudos recentes demonstraram que na urina dos peixes podem estar presentes feromonas (Barata, 2007) e que estas feromonas reflectem o estado reprodutivo de quem as liberta e afecta a fisiologia reprodutiva e o comportamento do receptor (Stacey, 2006). Por outro lado, a comunicação química é também importante no reconhecimento individual de conspecíficos. Os progenitores de algumas espécies de ciclídeos reconhecem a sua prole através de sinais químicos e os juvenis reconhecem o progenitor do mesmo modo (Myrberg, 1975).

A produção de sons pode também ser utilizada pelos peixes na comunicação sexual. A produção de sons ocorre em pelo menos 50 famílias de peixes ósseos (Myrberg, 1981; Hawkins & Myrberg, 1983; Hawkins, 1993; Ladich & Fine, 2006). Os comportamentos mais associados com a comunicação acústica em peixes incluem o comportamento territorial, interações agonísticas, a procura de parceiro e a corte (Zelick *et al.*, 1999). Nalgumas espécies, machos territoriais emitem vocalizações para atrair as fêmeas durante a corte (eg. xarroco, góbio) (Helfman *et al.*, 2009). Do mesmo modo, estudos com ciclídeos mostram que os machos emitem sons durante as exibições de corte e que a taxa de som aumenta significativamente durante a corte (Amorim *et al.*, 2004, 2008). Phillips & Johnston (2008) demonstraram também o papel da produção de sons em interações agonísticas e de corte no peixe *Cyprinella galactura*. A produção de sons é também bastante notória na espécie *Botia horae* (Cobitidae), que vocalizam e exibem-se visualmente para repelir intrusos do local de abrigo (Helfman *et al.*, 2009).

A comunicação eléctrica está restrita aos peixes eléctricos e tem também um papel na comunicação sexual. A função dos pulsos eléctricos no comportamento de corte foi estudada por exemplo no gimnotídeo *Sternopygus macrurus* (Hopkins, 1974) e em *Apteronotus leptorhynchus* (Triefenbach & Zakon, 2003). As espécies de mormirídeos africanos também produzem pulsos eléctricos e utilizam as capacidades electroreceptivas na orientação, comunicação, interações territoriais e de corte (Terleph & Moller, 2003; Wong & Hopkins, 2007; Baier & Kramer, 2007). Na espécie *Marcosenius pongolensis*, o sucesso reprodutivo do macho é incrementado pelo aumento da capacidade de produzir descargas mais intensas possibilitadas por um maior desenvolvimento dos órgãos eléctricos (Machnik & Kramer, 2008).

1.3. Comunicação acústica em peixes

O facto de que os peixes produzem sons e que são capazes de detectar sinais acústicos é conhecido há já algum tempo. No entanto, foi apenas na segunda metade do século XX que os investigadores começaram a ter equipamento apropriado, o que permitiu expandir o campo da bioacústica em peixes (Tavolga, 1960; 1964; 1967).

Apesar do aumento do número de publicações sobre acústica de peixes nos últimos anos, esta área permanece pouco estudada. Isto parece dever-se às dificuldades técnicas existentes no estudo da comunicação acústica em peixes no seu habitat natural, nomeadamente no que diz respeito à identificação das espécies vocais e observação do seu comportamento (Fay & Popper, 1999; Zelick *et al.*, 1999) bem como à

impossibilidade de estudar todo o repertório acústico em cativeiro (e.g. peixes de profundidade). Talvez por isso exista a ideia errada de que poucas espécies de peixes produzem sons (Zelick *et al.*, 1999), apesar dos peixes representarem provavelmente o maior grupo produtor de sons dentro dos vertebrados (Ladich, 2004).

Existem actualmente mais de 30 000 espécies de peixes identificados, mas apenas uma pequena fracção foi investigada quanto às suas capacidades de produzir e detectar estímulos acústicos. Como já mencionado, pensa-se que a produção de sons ocorra em pelo menos 50 famílias de peixes ósseos (Myrberg, 1981; Hawkins & Myrberg, 1983; Hawkins, 1993; Ladich & Fine, 2006), mas este número deve estar consideravelmente subestimado (Ladich, 2004).

Os peixes vocalizam em vários contextos comportamentais tais como a defesa territorial, a corte e o acasalamento, durante a alimentação ou quando perturbados (e.g. ao serem capturados por um predador) (Ladich, 2011). Os sinais acústicos, segundo Zelick *et al.* (1999), parecem ser os mais vantajosos no meio aquático permitindo uma melhor comunicação a longas distâncias e em locais de fraca visibilidade.

A diversidade de sons produzida pelos peixes não é tão notória como noutros taxa, tal como as aves. A maioria dos peixes produz sons com pouca modulação quer em amplitude quer em frequência (Crawford *et al.*, 1986; Ladich, 1997; Lugli *et al.*, 1997; Bass *et al.*, 1999; Kaatz, 1999) e apresentam repertórios acústicos limitados; poucas espécies de peixes emitem mais do que um ou dois tipos distintos de sons (Horch & Salmon, 1973; Brown & Marshall, 1978; Crawford, 1997; dos Santos *et al.*, 2000). Além do mais, os peixes parecem produzir menos vocalizações do que insectos, anuros e aves, os quais podem produzir centenas de chamamentos por dia (Zelick *et al.*, 1999), provavelmente devido a limitações fisiológicas da produção de som na água (Amorim *et al.*, 2002; Thorson & Fine, 2002). De uma maneira geral, a diversidade na produção de sons em peixes está associada quer à variabilidade nos mecanismos subjacentes à produção de sons, quer a diferenças entre espécies da mesma família ou mesmo na mesma espécie (diferenças individuais), podendo ainda estar dependente do contexto no qual ocorre a produção de sons.

Ao contrário dos anfíbios, aves e mamíferos, que produzem sons através de um tubo com ar (laringe ou siringe) associado a membranas (e.g. cordas vocais), cavidades e sacos (Bradbury & Vehrencamp, 1998), os peixes exibem uma grande diversidade de mecanismos de produção de som (Ladich & Fine, 2006). Apesar do conhecimento acumulado desde Aristóteles, a diversidade nos mecanismos conhecidos continua a aumentar, sendo mesmo descritos novos mecanismos (Ladich & Fine, 2006). Estes recaem sobre duas categorias maiores, sendo elas: os mecanismos peitorais, onde o som, geralmente com uma banda espectral larga, resulta de movimentos das barbatanas

(normalmente as peitorais), e mecanismos associados à bexiga-natatória (Ladich & Fine 2006). Este último é o mais comum e consiste na contração rápida dos músculos especializados, que comprimem e distendem a bexiga-natatória, resultando na emissão de sons de baixa frequência (abaixo de 1 kHz). Estes músculos podem ser intrínsecos (com fibras ligadas às paredes da bexiga-natatória) ou extrínsecos (originam-se em estruturas como o crânio, ou num processo da coluna vertebral, e inserem-se directa ou indirectamente na bexiga-natatória) (Hawkins & Myberg, 1983). Adicionalmente, a libertação de bolhas pelo ânus foi proposta como tendo algum valor comunicativo (Wahlberg & Westerberg, 2003; Wilson *et al.*, 2004). Na maioria dos *taxa*, apenas um mecanismo de geração de sons está presente e em alguns grupos, tal como nos góbios, os mecanismos ainda são desconhecidos.

Os mecanismos de geração de sons apresentam frequentemente dimorfismo sexual, podendo estar presentes exclusivamente em machos, como em muitas espécies de scianídeos (Chao, 1978) ou, mais comumente, estar melhor desenvolvidos em machos, uma vez que estes são tipicamente os principais produtores de sons. Apesar da produção de sons estar usualmente associada com a corte ou interações agonísticas dos machos, as fêmeas, com músculos sónicos mais pequenos, vocalizam na maioria dos peixes, particularmente durante interações agonísticas (Ladich, 1997).

Embora a diversidade dos sons dos peixes possa não ser tão notória como noutros *taxa*, a variabilidade, especialmente no domínio temporal, suporta a sua utilização na comunicação. A variabilidade dos sons produzidos por indivíduos da mesma espécie pode contribuir para a escolha de parceiro (através da escolha de um parceiro com as melhores características ou com a motivação certa), para a avaliação de oponentes durante combates, ou para o reconhecimento da identidade dos competidores, podendo mesmo ter um papel na promoção do isolamento reprodutivo (Amorim, 2006).

1.4. Audição em peixes

Embora a audição em peixes tenha sido pela primeira vez demonstrada no início do século passado (Parker, 1903; Bigelow, 1904), o número de estudos das capacidades auditivas em peixes aumentou enormemente nas últimas décadas.

Uma das questões fundamentais no que diz respeito à audição em peixes (tal como noutros vertebrados) é o porquê da sua origem. Claramente, a audição é usada para comunicação intraespecífica (Myrberg & Spire, 1980; Zelick *et al.*, 1999). No entanto, trabalho recente sugeriu que a audição terá evoluído nos peixes como mais um canal para perceber alterações no seu ambiente. Na realidade, visto que os sinais visuais

são efectivos apenas com luz adequada, e os sinais químicos são de propagação lenta dependente de difusão ou correntes, o som tem o potencial de fornecer ao peixe informação sobre o ambiente a distâncias consideráveis e de forma quase instantânea (devido à elevada velocidade de propagação), e com significativa informação direccional (Fay & Popper, 2000; Fay, 2008). Na água a turbidez apresenta um problema adicional para a visão, podendo a audição ter surgido por pressões selectivas para a detecção de predadores e presas distantes, bem como para a detecção de objectos no ambiente, localização de recifes de corais, etc. (Fay & Popper, 2000; Fay, 2008).

Apesar de ocorrerem notáveis variações anatómicas e fisiológicas nos sistemas auditivos em peixes (Nedwell *et al.*, 2004) sugerindo que várias espécies podem detectar e processar o som de forma diferente (Popper & Fay, 1993), medidas da capacidade auditiva demonstraram que a maioria das espécies de peixes ouvem numa gama de frequências relativamente estreita. Geralmente, isto varia desde 50 Hz ou menos até 1000 ou 1500 Hz. Alguns peixes, no entanto, conseguem ouvir frequências até aos 4000 Hz, ou mesmo ultra-sons (> 20 KHz), como por exemplo alguns clupeídeos (Luczkovich *et al.*, 2011).

Ao contrário da maioria dos vertebrados terrestres, os peixes não possuem ouvido externo e médio. Os órgãos receptores para os estímulos acústicos em peixes, estão situados no ouvido interno (Popper & Combs, 1980) que apresenta inúmeras funções, tais como a orientação no campo gravitacional, a sensibilidade para aceleração e a detecção de som. O ouvido interno é constituído por uma parte dorsal, que inclui o utrículo e os canais semicirculares, e uma parte ventral que compreende o sáculo e a lagena (Wysocki, 2006) (Fig. 1).

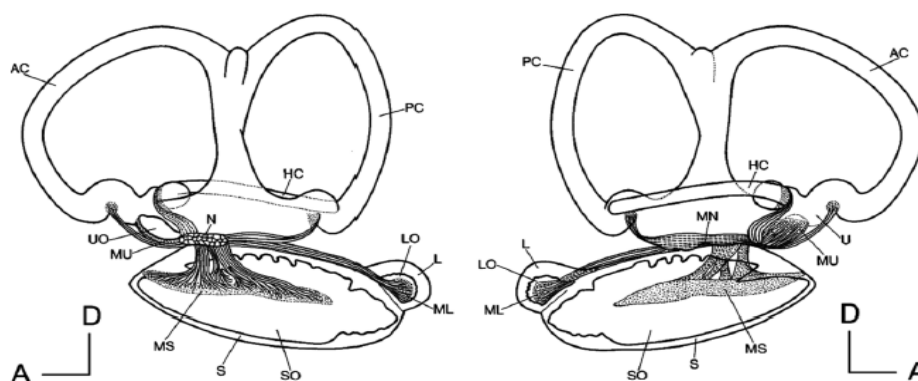


Fig.1- Ouvido interno de um peixe teleosteo (perca). Vista mediana à esquerda e vista lateral à direita. AC, HC, PC, canais semicirculares anterior, horizontal e posterior; L, lagena; LO, otólito da lagena; MN, macula neglecta; MU, epitélio utricular; MS, epitélio sacular; N, oitavo nervo craniano; S, sáculo; SO, otólito do saculo; UO, otólito do utrículo (Popper & Schilt, 2008).

Os órgãos mecanorreceptores providos de ótolito (sáculo, utrículo e lagena) contêm um epitélio sensorial (mácula) coberto por uma membrana otolítica e por uma estrutura rígida, constituída por carbonato de cálcio que se designa otólito, e cuja forma é específica de cada espécie (Popper, 1998; Nedwell *et al.*, 2004; Wysocki, 2006). A mácula consiste num conjunto de células de suporte e vários tipos de células sensoriais ciliadas. Estas células são caracterizadas pela presença de um único kinocílio ligado apicalmente a diversos estereocílios (Platt & Popper, 1981; Lu & Popper, 1981; Popper & Fay, 1999; Wysocki, 2006; Popper & Schilt, 2008). As células sensoriais ciliadas estão dispostas em padrões específicos de orientação: os feixes ciliares de cada região estão orientados na mesma direcção do kinocílio (Popper & Schilt, 2008). Esta orientação dos cílios pode conferir a capacidade de determinar a direcção do movimento de partículas num campo acústico e, assim, fornecer informação sobre a direcção da fonte sonora (Dale, 1976; Popper, 1976; Popper *et al.*, 2003; Fay, 2005; Popper & Schilt, 2008).

Num campo acústico, e devido a diferenças significativas entre a densidade do epitélio sensorial e do otólito, o epitélio tende a acompanhar a onda sonora, enquanto o otólito tende a permanecer em descanso. Este movimento relativo entre o epitélio sensorial e o otólito gera uma força que flexiona os feixes ciliares (Lu, 2011). Quando a deformação destes feixes ocorre dos estereocílios para o kinocílio, as células ciliadas são activadas por despolarização, levando à libertação de um neurotransmissor e à estimulação de neurónios auditivos cujos axónios integram o oitavo nervo craniano (Hudspeth, 1985, 1997). No sistema nervoso central, cinco núcleos principais (McCormick, 1999), designados núcleo octaval de primeira ordem, recebem a informação aferente do oitavo nervo. Entre estes, o núcleo octaval descendente é considerado a principal estrutura de recepção dos estímulos auditivos (Crawford, 1997; Edds-Walton *et al.*, 1999; Fay & Edds-Walton, 1999). A informação auditiva é depois projectada no encéfalo médio sendo o torus semicircular o principal centro de integração, cujo núcleo central, medianamente posicionado, codifica a informação auditiva (Crawford, 1997; Ma & Fay, 2002).

A variabilidade na audição dos peixes é principalmente devida à presença de estruturas auditivas acessórias. De acordo com a sensibilidade auditiva e presença de tais estruturas, os teleósteos têm sido classificados em especialistas, generalistas e intermédios (Hawkins & Myrberg, 1983; Hawkins, 1993; Ladich & Popper, 2004). Os especialistas têm sido caracterizados como apresentando especializações morfológicas que consistem em vesículas cheias de gás ou estruturas ósseas (Ossículos de Weber) ligados à parte anterior da bexiga-natatória, que pode estar também ligada ou próxima do ouvido interno (ver fig. 2 c,d). A vibração da parede da cavidade causa flutuações na pressão do gás que são transmitidas ao ouvido interno aumentando a sensibilidade auditiva. Este grupo de peixes especialistas na audição é sensível à pressão do som até

cerca de 1 kHz (ex. mormirídeos, anabantídeos, ciprinídeos) (Crawford, 1997; Ladich, 1999; Scholz & Ladich, 2006). Por outro lado os generalistas como os batracoidídeos e salmonídeos, que não têm essas estruturas auditivas acessórias, respondem essencialmente aos componentes cinéticos das ondas de som de baixa frequência (abaixo de 1 KHz) e a amplitudes mais elevadas (fig. 2 a) (Fish & Offut, 1972; Hawkins, 1993). O terceiro grupo, que compreende espécies com capacidades auditivas intermédias, também sensível à pressão de som, pode ter, por sua vez, extensões da bexiga-natatória que não estão ligadas ao ouvido interno (fig. 2 b) (e.g. gadóides e pomacentrídeos) (Chapman & Hawkins, 1973; Myrberg & Spires, 1980).

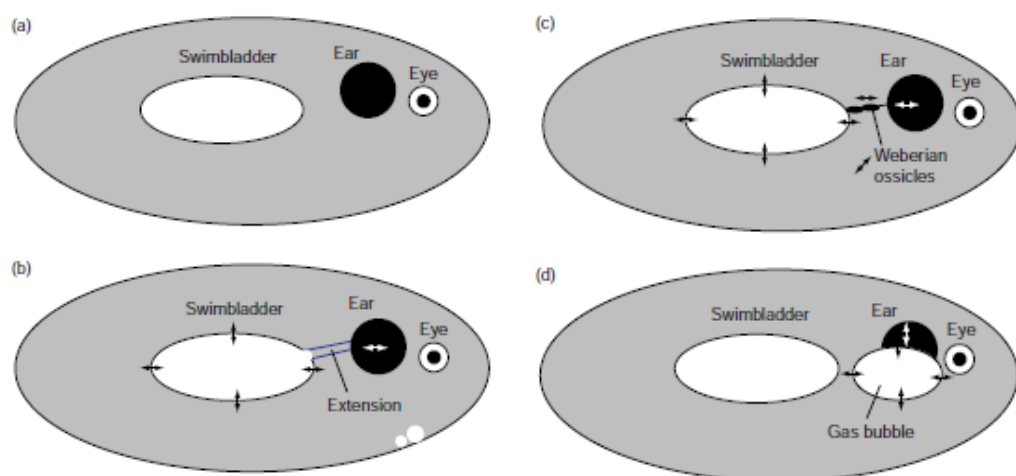


Fig.2- Desenho esquemático da relação entre o ouvido interno e a bexiga-natatória em diferentes espécies. a) Não há ligação entre bexiga-natatória e ouvido interno; b) A bexiga-natatória projecta-se para a frente e contacta com o ouvido interno; c) Condição de um peixe otofiseo onde uma série de ossículos ligam o ouvido interno com a bexiga-natatória; d) Condição especial onde existe uma bolha de gás secundária perto do ouvido interno (anabantídeos, clupeídeos e mormirídeos) (Ladich & Popper, 2004).

1.5.Família Gobiidae

A família Gobiidae é a maior família de peixes (Alfred-Ockiva, 2000), ocorrendo por todo o mundo em regiões tropicais e temperadas. A família compreende cerca de 2000 espécies pertencentes aproximadamente a 212 géneros (Lawson *et al.*, 2011).

Esta família é bastante bem sucedida na exploração de diferentes ambientes. A maioria das espécies habita águas rasas de regiões costeiras, outras habitam áreas de água salobra enquanto outras são espécies de água doce. São também conhecidas espécies catádrovas (Hoese, 1998; Hoese & Larson, 2006).

Os membros desta família são geralmente pequenos, a grande maioria com comprimento inferior a 10 cm, estando entre os peixes mais pequenos do Mundo (Helfman *et al.*, 2009). Possuem uma cabeça larga e os olhos situam-se em posição superior; as barbatanas pélvicas unem-se formando um disco que serve para adesão ao substrato (Hoese & Larson, 2006), sendo este o aspecto mais distintivo da morfologia dos góbios. Para além disso, os góbios têm duas barbatanas dorsais e o corpo é, normalmente, revestido por escamas ciclóides ou ctenóides (Hoese & Larson, 2006).

A família Gobiidae é considerada um caso de estudo para a compreensão da sinalização acústica em peixes (Bass & McKibben, 2003), visto que inclui muitas espécies vocais (Lugli *et al.*, 1997; Myrberg & Lugli, 2006), muitas alvo de estudos-chave na área da bioacústica.

O género *Pomatoschistus*, insere-se nesta família, e compreende 12 espécies: *P. bathi*, *P. canestrinii*, *P. knerii*, *P. lanzanoi*, *P. montenegrensis*, *P. norvegicus*, *P. quagga*, *P. tortonesi*, *P. marmoratus*, *P. minutus*, *P. microps* e *P. pictus* (Miller, 1986; Miller & Sanda, 2008). Neste trabalho, usou-se como modelo de estudo o *Pomatoschistus pictus*.

1.5.1. *Pomatoschistus pictus* (Malm, 1865): o góbio de areia

O góbio de areia (fig. 3) é uma espécie costeira bentónica, usualmente encontrada em fundos de areia ou cascalho até aos 55 m de profundidade (Miller, 1990). Os indivíduos mais jovens podem ser encontrados nos enclaves rochosos do mediolitoral. Esta espécie ocorre ao longo da costa Este do Oceano Atlântico e no Mediterrâneo (fig. 4). (Miller, 1986)



Fig.3 - Imagem de um exemplar da espécie *Pomatoschistus pictus*.

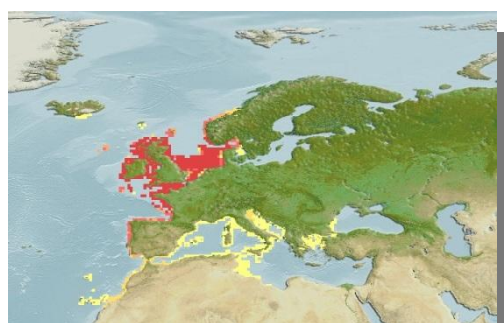


Fig. 4 - Mapa de distribuição da espécie *Pomatoschistus pictus*.

É um peixe pequeno, atingindo um comprimento máximo de 57 mm, e que pode viver até aos 2 anos (Miller, 1986). O corpo desta espécie é curto e arredondado, com olhos dorsais e uma barbatana caudal arredondada. O corpo tem uma coloração amarelo

esverdeada e possui duas barbatanas dorsais raiadas, próximas uma da outra, com fileiras de pontos negros e com manchas azuis e rosa. Possuem também umas manchas escuras ao longo das zonas laterais do corpo e, por vezes durante a época de reprodução, os machos apresentam uma pigmentação escura no maxilar inferior (Edlund *et al.*, 1980; Miller, 1986; Quéro *et al.*, 2003).

Fêmeas e machos não se distinguem facilmente. As fêmeas são, geralmente, mais pequenas e apresentam o ventre mais dilatado durante a época de reprodução. Em *P. pictus*, tal como em *P. microps* e *P. minutus*, existe dimorfismo sexual a nível da papila urogenital, que é alongada nos machos e curta e arredondada nas fêmeas (Guitel, 1892). Este dimorfismo é também observado noutras espécies de góbios (Miller, 1961).

Reproduz-se de Fevereiro a Julho, dependendo da localização (Miller, 1986). Tal como noutras espécies de góbios, os machos *P. pictus* são polígamos, mostrando alto esforço reprodutivo (Rogers, 1988). Durante a época reprodutiva os machos constroem os ninhos debaixo de conchas vazias, cobrindo-os parcial ou totalmente de areia, deixando uma pequena abertura (Bouchereau *et al.*, 2003). Os machos defendem activamente os ninhos, que são usados como local de desova, e fornecem cuidados parentais durante a época reprodutiva (Miller, 1986). Quando uma fêmea se mostra interessada no macho, entra no ninho onde desova. Aquando da desova, a fêmea pressiona o ventre contra o tecto do ninho, libertando ovos de pequenas dimensões (Miller, 1986), que ficam aderentes às paredes do ninho através de um disco adesivo (Patzner, 1984). Após a desova, a fêmea abandona o ninho, deixando o macho responsável pela defesa do ninho e cuidados parentais.

Sons emitidos durante o comportamento reprodutivo foram descritos em machos de diferentes espécies de góbios, e podem ser observados durante a corte, pré-desova (no ninho, enquanto fêmeas visitam o ninho) ou na desova (Lugli *et al.*, 1997; Myrberg & Lugli, 2006). O góbio de areia produz dois tipos diferentes de sons durante as etapas iniciais de corte (Amorim & Neves, 2007), que se designam por “drums” e “thumps”. Os sons tipo “drums” são sons pulsados relativamente longos, regularmente espaçados e de baixa frequência (Lindstrom & Lugli, 2000; Amorim & Neves, 2007) (fig.5 b). Estes sons são normalmente produzidos quando o macho se encontra dentro do ninho juntamente com a fêmea (observação pessoal). Os sons tipo “thump” são caracterizados por uma muito baixa frequência (abaixo 100 Hz), uma duração na ordem dos 80 ms, e por não apresentarem uma estrutura pulsada (Amorim & Neves, 2007) (fig.5 a). São frequentemente produzidos quando o macho convida a fêmea para entrar no ninho, no entanto, podem também ser produzidos fora do ninho (observação pessoal). Lugli & Torricelli (1999) propuseram que os sons de corte emitidos pelos machos podem ser usados na escolha de parceiro sexual, visto que as fêmeas entram em vários ninhos

antes de decidirem onde desovar e os sons apenas são produzidos pelos machos no ninho.

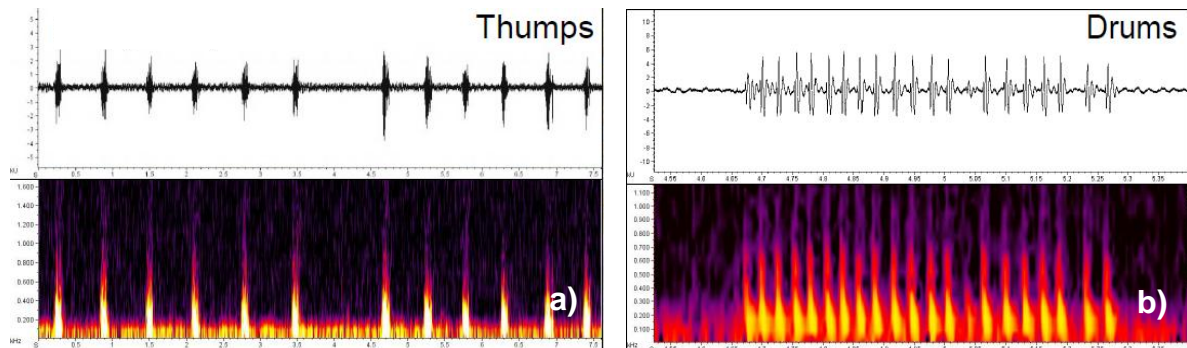


Fig. 5 - Exemplos de sons produzidos por machos da espécie *Pomatoschistus pictus*. Oscilograma e espectrograma a) de um conjunto de *thumps* e b) de um conjunto de *drums*.

Esta espécie foi escolhida visto ser um excelente modelo de estudo para responder a questões de ecologia comportamental e de comunicação acústica. É também de fácil manutenção em cativeiro sendo abundante e facilmente capturada nos sistemas marinhos, exibindo ainda uma grande resistência e capacidade de adaptação.

1.6.Objectivos

Os objectivos principais do trabalho foram os seguintes:

1) Testar se a dimensão dos machos dos góbios *Pomasthoschistus pictus* está correlacionada com o sucesso reprodutor, através da avaliação da preferência das fêmeas por machos de diferentes tamanhos. O trabalho teve em conta a actividade de corte do macho, incluindo as suas vocalizações, pois estudos anteriores demonstraram que os machos desta espécie não só produzem sons durante a corte, mas também que machos de maiores dimensões apresentam uma maior taxa de produção de sons de corte e sons com maior duração.

2) Averiguar se os sons emitidos pelos machos durante a época reprodutora influenciam a escolha por parte das fêmeas, bem como se os machos usam estas pistas sensoriais na competição reprodutiva com outros machos. Para tal foram feitas experiências de *playback* em que foi avaliada a preferência de fêmeas e de machos por sons de corte apresentados a uma taxa elevada ou baixa bem como a preferência por sons longos ou curtos.

Estes temas foram abordados em dois capítulos distintos.

1.7. Bibliografia

Ahnesjo, I.; Forsgren, E.; Kvarnemo, C. 2008. Variation in sexual selection in fishes. Pp 303-335. In: Maghagen, C.; Braithwaite, V.; Forsgren, E.; Kapoor, B.G. (eds.) *Fish Behaviour*. Science Publishers, New Hampshire. 648p.

Aiken, R.B. 1985. Sound production by aquatic insects. *Biol Rev*, 60: 163-211.

Alfred-Ockiya, J.F. 2000. Study of food habits of goby, *Porogobius schlegelii* (Gunther, 1861) from Elechi Creek, off Bonny River, Niger Delta, Nigeria. *J. Aquatic Sci.*, 16: 79-83.

Almeida, O.G.; Miranda, A.; Frade, P.; Hubbard, P.C.; Barata, E.N.; Canário, A.V.M. 2005. Urine as a social signal in the Mozambique Tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Chem Senses*, 30:1309-1310.

Amorim, M.C.P.; McCracken, M.L.; Fine, M.L. 2002. Metabolic costs of sound production in the oyster toadfish, *Opsanus tau*. *Can J Zool*, 80: 830–838.

Amorim, M.C.P.; Knight, M.E.; Stratoudakis, Y.; Turner, G.F. 2004. Differences in sounds made by courting males of three closely related Lake Malawi cichlid species. *J Fish Biol*, 65: 1358-1371.

Amorim, M.C.P. 2006. Diversity of sound production in fish. In: Communication in fishes. Ladich, F.; Collin, S.P.; Moller, P.; Kapoor, B.G. (eds), vol.1. *Science publishers, Enfield U.S.A.*

Amorim, M.C.P.; Neves, A.S.M. 2008. Male painted gobies (*Pomatoschistus pictus*) vocalise to defend territories. *Behaviour*, 145: 1065-1083

Amorim, M.C.P.; Simões, J.M.; Fonseca, P.J.; Turner, G.F. 2008. Species differences in courtship acoustic signals among five Lake Malawi cichlid species (*Pseudotropheus spp*). *J Fish Biol*, 72:1355-1368.

Andersson, M.B. 1994. Sexual selection. *Princeton University Press*. Princeton, NJ. 599p.

Andersson, M.B.; Iwasa, Y. 1996. Sexual selection. *Tree*, 11: 53-58.

Andersson, M. B.; Simmons, L.W. 2006. Sexual selection and mate choice. *Trends Ecol Evol*, 21: 296-302

Baier, B.; Kramer, B. 2007. Electric communication during courtship and spawning in two sibilins species of dwarf stonebasher from southern Africa, *Pollinyrus castelnaui* and *P. Marianne* (Mormyridae, Teleostei): evidence for a non-species specific communication code? *Behaviour*, 144:115-142.

Barata, E.N.; Hubbard, P.C.; Almeida, O.C.; Miranda, A.; Canário, A.V.M. 2007. Male urine signals social rank in the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *BMC Biology*, 5:54.

Bass, A.H.; Bodnar, D.A.; Marchaterre, M.A. 1999. Complementary explanations for existing phenotypes in an acoustic communication system. In: Neural Mechanisms of Communication. Hauser, M.; Konishi, M. (eds.). *MIT Press*, Cambridge, UK, pp. 493–514.

- Barbosa, M.; Magurran, A. E. 2006. Female mating decisions: maximizing fitness? *J Fish Biol*, 68: 1636-1661.
- Bigelow, H.B.1904. The sense of hearing in the gold fish *Carassius auratus* L. *Am. Nat.*, 38: 275:284.
- Bradbury J.W.; Vehrencamp S.L. 1998. Principles of animal communication. *Sinauer Associates*, Inc. 882 pp.
- Brown, D.H.; Marshall, J.A. 1978. Reproductive behaviour of the rainbow cichlid, *Herotilapia multispinosa* (Pisces, Cichlidae). *Behaviour*, 67: 299–322.
- Chao, L. N. 1978. A basis for classifying Western Atlantic Sciaenidae (Teleostei: Perciformes). NOAA Technical Report, Circular 415. Washington DC: US Dept. Comm., Natl. Oceanic Atmospheric Administration, National Marine Fisheries Services, pp. 65.
- Chapman, C.J.; Hawkins, A.D.1973. A field study of hearing in the cod, *Gadus morhua*. *J. Comp Physiol*, 85: 147-167.
- Crawford, J.D. 1997. Hearing and acoustic communication in mormyrid electric fishes. *Mar Fresh Behav Physiol*, 29: 65–86.
- Castro, A.L.S; Gonçalves-de-freitas, E.; Volpato, G.L; Oliveira, C. 2009. In press. Visual communication stimulates reproduction in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Braz J Med Biol Res*.
- Crawford, J.D.; Hagedorn, M.M;. Hopkins, C.D. 1986. Acoustic communication in an electric fish, *Pollimyrus isidori* (Mormyridae). *J Comp Physiol A* 159: 297–310.
- Crawford, J.D.1997. Hearing and acoustic communication in mormyrid electric fishes. *Mar Fresh Behav Physiol*, 29: 65–86.
- Dale, T. 1976. The labyrinthine mechanoreceptor organs of the cod *Gadus morhua* L. (Teleostei, Gadidae). *Norw J Zool*, 24:85–128.
- Darwin, C. 1871. The descent of man, and selection in relation to sex.: *Princeton university press*. Princeton.
- dos Santos, M.; Modesto, T.; Matos, R.J.; Grober, M.S ; Oliveira, R.F; Canario,. A. 2000. Sound production by the Lusitanian toadfish, *Halobatrachus didactylus*. *Bioacoustics*, 10: 309–321.
- Edds-Walton, P.L.; Fay, R.R.; Highstein, S.M. 1999. Dendritic arbors and central projections of physiologically characterized auditory fibers from the saccule of the toadfish, *Opsanus tau*. *J Comp Neurol*, 411: 212–238.
- Edlund, A.M.; Sundmark, G.; Thorman, S.1980. The identification of *Pomatoschistus pictus*, *P. microps* and *P. minutus* (Gobidae, Pisces). *SARSIA*, 63: 239-243
- Fagundes, T.; Gonçalves, D.M.; Oliveira, R.F. 2007. Female mate choice and mate search tactics in a sex role reversed population of the peacock blenny *Salaria pavo* (Risso, 1810) *J Fish Biol*, 71: 77-89.

- Fay, R.R.; Popper, A. 1999. Hearing in Fishes and Amphibians: An Introduction, in: Fay, R., Popper, A. (Eds.), *Comparative Hearing: Fish and Amphibians*. Springer-Verlag, New York, U.S.A., pp. 1-14.
- Fay, R.R.; Edds-Walton, P.L. 1999. Sharpening of directional auditory input in the descending octaval nucleus of the toadfish, *Opsanus tau*. *Biol Bull*, 197: 240–241.
- Fay, R.R.; Popper, A.N. 2000. Evolution of hearing in vertebrates: The inner ears and processing. *Hear Res* 149: 1–10.
- Fay, R.R. 2005. Sound localization by fishes. In: *Sound Source Localization*. Popper, A.N.; Fay, R.R. (eds). New York: *Spring Sci Bus Med*, pp. 36–66.
- Fish, J.; Offutt, C. 1972. Hearing Thresholds from Toadfish, *Opsanus tau*, measured in the laboratory and field. *J Acous Soc Am*, 51: 1318-1321.
- Giaquinto, P.C.; Volpato, G.L. 1997. Chemical communication, aggression, and conspecific recognition in the fish Nile tilapia. *Physiol Behav*, 62: 1333-1338.
- Gonçalves-de-Freitas, E.; Teresa, F.B.; Gomes, F.S.; Giaquinto, P.C. 2008. Effect of water renewal on dominance hierarchy in the Nile Tilapia. *Appl Anim Behav Sci*, 112: 187-195.
- Gross, M. R.; Sargent, R. C. 1985. The evolution of male and female parental care in fishes. *Am Zool*, 25: 807-822.
- Guitel, F. 1892. Observations sur le moeurs du *Gobius minutes*. *Archs Zool Exp Gén*, 1982:199-550.
- Hawkins, A.D.; Myrberg, A.A. 1983. Hearing and sound communication under water. In: *Bioacoustics, A Comparative Approach*, B. Lewis (ed.). *Academic Press*, London, pp. 347–405.
- Hawkins, A.D. 1993. Underwater sound and fish behavior. In: *Behaviour of Teleost Fishes*. Pitcher, T. (Ed.). *Chapman and Hall*, London, U.K., pp. 129-169.
- Helfmann, G.S.; Collette, B.B.; Facey, D.E. 2009. The diversity of fishes: biology, evolution and ecology. 2nd edn. *Blackwell science, Inc*, 317 pp.
- Hoese, D. 1998. Gobies. In: *Encyclopedia of Fishes*, Eschmeyer, W.N.; Paxton, J.R. (Eds.). 2nd Edn., *California Academic Press*, San Diego, pp: 218.
- Hoese, D.F.; Larson, H.K. 2006. Gobiidae. In: *Fishes* (Hoese, D.F., Bray, D.J., Paxton, J.R.; Allen, G.R.). In: *Zoological catalogue of Australia* (Beesley, P.L.; Wells, A.) Volume 35. Parts 1–3. *ABRS and CSIRO Publishing Eds.*, Canberra.
- Hopkins, C.D. 1974. Electric communication in the reproductive behavior of *Sternopygus macrurus* (Gymnotoidae). *Zeitschrift fur Tierpsychologie*, 35:518-535.
- Horch, K.; Salmon M. 1973. Adaptations to the acoustic environment by the squirrelfishes *Myripristis violaceus* and *M. pralinus*. *Mar Behav Physiol*, 2: 121–139.
- Howard, R.D. 1980. Mating behaviour and mating success in woodfrogs, *Rana sylvatica*. *Anim Behav*, 28:705-716.

- Hudspeth, A.J. 1985. The cellular basis of hearing: the biophysics of hair cells. *Science*, 230:745–752.
- Hudspeth, A.J. 1997. Mechanical amplification of stimuli by hair cells. *Curr Opin Neurobiol*, 7:480–486.
- Kaatz, I.M. 1999. The behavioral and morphological diversity of acoustic communication in a clade of tropical catfishes (Superfamily Ariodei). Ph.D. thesis. *Suny Coll. Envir. Sc. Fo.*, Syracuse, NY.
- Kasumyan, A.O. 2009. Acoustic signaling in fish. *J. Ichthyol.* (49) 11: 963–1020.
- Kodric-Brown A. 1990. Mechanisms of sexual selection: insights from fishes. *Annual Zoology Fennici*, 27:87-100.
- Labonne, J.; Augery, M.; Parade, M.; Brinkert, S.; Prevost, E.; Hé Land, M.; Beall, E. 2009. Female preference for male body size in brown trout, *Salmo trutta*: is big still fashionable? *Anim behav*, 72: 263-273.
- Ladich F. 1997. Agonistic behaviour and significance of sounds in vocalizing fish. *Mar Fresh Behav Physiol*, 29: 87–108.
- Ladich, F. 1997. Comparative analysis of swimbladder (drumming) and pectoral (stridulation) sounds in three families of catfishes. *Bioacoustics*, 8: 185–208.
- Ladich, F. 1999. Did auditory sensitivity and vocalization evolve independently in otophysan fishes? *Brain Behav Evol*, 53: 288-304.
- Ladich, F.; Popper, A.N. 2004. Parallel evolution in fish hearing organs. In: Manley, G.; Popper, A.N.; Fay, R.R. (Eds.), *Evolution of the Vertebrate Auditory System*. Springer-Verlag, New York, U.S.A., pp. 95-127.
- 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*. Narosa Publishing House, New Delhi, India, pp. 210–230.
- Ladich, F.; Fine, M.L. 2006. Sound-generating mechanisms in fishes: a unique diversity in vertebrates. In: Ladich, F.; Collin, S.P.; Moller, P.; Kapoor, B.G. (Eds.), *Communication in Fishes*, Vol. 1. Science Publishers, Enfield, U.S.A., pp. 1-43.
- Lawson, E.O. 2011. Length-weight relationships and fecundity estimates in mudskipper, *Periophthalmus papilio* (Bloch and Schneider 1801) caught from the mangrove swamps of Lagos Lagoon, Nigeria. *J Fish Aquat Sci*, 6: 264-271.
- Liker, A.; Szekely, T. 1997. Aggression among female lapwings, *Vanellus vanellus*. *Anim Behav*, 54:797-802.
- Luczkovich, J. J.; Sprague, M. W.; Krahorst, C. S. 2011. Acoustic Behavior. In: Farrell, A. P. (ed.), *Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment*, Academic Press, San Diego. vol. 1, pp. 311-320.
- Lu, Z.; Popper, A.N. 1998. Morphological polarizations of sensory hair cells in the three otolithic organs of a teleost fish: fluorescent imaging of ciliary bundles. *Hear Res*, 126: 47–57.

- Lu, Z. 2011. Physiology of the Ear and Brain: How fish Ear. In: Encyclopedia of fish biology- from genome to environment. *Academic Press*, San Diego: vol 1, pp.292-297
- Lugli, M.; Torricelli, P.; Pavan, G.; Mainardi, D. 1997. Sound production during courtship and spawning among freshwater gobiids (Pisces, Gobiidae). *Mar Fresh Behav Physiol*, 29: 109 – 126.
- Ma, W.L.D.; Fay, R.R. 2002. Neural representations of the axis of acoustic particle motion. *J Comp Physiol A*, 188: 301–313.
- Machnik, P.; Kramer, B. 2008. Female choice by electric pulse duration: attractiveness of the males' communication signal assessed by female bulldog fish, *Marcusenius pongolensis* (Mormyridae, Teleostei) *J Exp Biol*, 211:1969-1977.
- Miller, G.F. 2001. *A mente seletiva: como a escolha sexual influenciou a evolução da natureza humana*. Editora Campos, Rio de Janeiro, 544p.
- McCormick, C.A. 1999. Anatomy of the central auditory pathways of fish and amphibians. In: Comparative Hearing: Fish and Amphibians, Popper, A.N.; Fay, R.R. (eds.). *Springer-Verlag*, New York, pp. 155–217.
- Miller, P.J.1961. Age, growth, and reproduction of the rock goby, *Gobius paganellus* L. in the Isle of Man. *J Mar Biol Assoc UK*, 41:737-769.
- Miller, P.J. 1986. Gobiidae. p. 1019-1085. In Whitehead, P.J.P.; Bauchot, M.L.; Hureau, J.C.; Nielsen, J.; Tortonese, E. (eds.) Fishes of the North-eastern Atlantic and the Mediterranean. UNESCO, Paris. Vol. 3.
- Miller, P.J. 1990. Gobiidae. p. 925-951. In J.C. Quero, J.C. Hureau, C. Karrer, A. Post and L. Saldanha (eds.) Check-list of the fishes of the eastern tropical Atlantic (CLOFETA). JNICT, Lisbon, SEI, UNESCO, Paris. Vol. 2.
- Møller, A.P.; Linden, M.; Soler, J.J.; Soler, M.; Moreno, J. 1995. Morphological adaptations to an extreme sexual display, stone-carrying in the black wheatear, *Oenanthe leucura*. *Behav Ecol*, 6: 368-375.
- Myrberg, A.A.; Spires, J.Y. 1980. Hearing in damselfishes: an analysis of signal detection among closely related species. *J Comp Physiol*, 140: 135–144.
- Myberg A.A., Lugli M. 2006. Reproductive behaviour and acoustical interactions. In: Communication in fishes. Ladich, F.; Collin, S.P.; Moller, P.; Kapoor, B.G. (eds),. *Science publishers, Enfield U.S.A.* vol 1.
- Nedwell, J.R.; Edwards, B.; Turnpenny, A.W.H.; Gordon, J. 2004. Fish and marine mammal audiograms: a summary of available information. *Subacoustech Report ref: 534R0214*, www.subacoustech.com
- Owens, I. P. F.; Burke, T.; Thompson, D. B. A. 1994. Extraordinary sex-roles in the Eurasian dotterel: female mating arenas, female-female competition, and female mate choice. *Am Nat*, 144:76-100.
- Parker, G.H. 1903. The sense of hearing in fishes. *Am Nat*, 37: 185: 204.
- Phillips, C.T.; Johnston, C.E. 2008. Sound production and associated behaviors in *Cyprinella galactura*. *Environ Biol Fish*, 82:265-275.

Platt, C.; Popper A.N. 1981. Fine structure and function of the ear. In: Hearing and Sound Communication in Fishes, Tavolga, W.N.; Popper, A.N.; Fay, R.R. (eds.). *Springer-Verlag*, New York: 3–36.

Popper, A.N. 1976. Ultrastructure of the auditory regions in the inner ear of the lake whitefish. *Science*, 192:1020–1023.

Popper, A.N.; Coombs, S. 1980. Auditory Mechanism in Teleost Fishes. *Am Sci*, 68: 429-440

Popper, A.N.; Fay, R.R. 1993. Sound detection and processing by fish: critical review and major research questions. *Brain Behav Evol*, 41: 14–38.

Popper, A. N. 1998. Structure-function relationships in the ears of fishes. *Bioacoustics* : 115-118.

Popper, A.N.; Fay ,R.R. 1999. The auditory periphery in fishes. In: Comparative Hearing: Fish and Amphibians, Fay, R.R.; Popper, A.N. (eds.). *Springer-Verlag*, New York:43–100.

Popper, A.N.; Fay, R.R.; Platt, C.; Sand, O. 2003. Sound detection mechanism and capabilities of teleost fishes. In: Sensory Processing in Aquatic Environments, Collin, S.P.; Marshall, N.J. (eds.). *Springer-Verlag*, New York:3–38.

Popper, A.N.; Schilt, C.R. 2008. Hearing and acoustic behavior (basic and applied). In: Fish Bioacoustics, eds. Webb, J.F.; Fay, R.R.; Popper, A.N.. New York: *Spring Sci Bus Med, LLC*.

Quéro, J.C., Porché P., Vayne, J.J. 2003. Guide des poisons de l'Atlantique européen. Guides du Naturaliste. Lonay (Switzerland)- Paris, *Delachaux & Niestlé*, 465 pp.

Rosenthal, G.G.; Lobel, P.S. 2006. Communication, Pp. 39-78. In.: Sloman, K.A.; Wilson, R.W.; Balshine, S. (eds.). Behaviour and Physiology of Fish (Fish Physiology series, v.24). *Elsevier Academic Press*, London. 480p.

Scholz, K.;Ladich, F. 2006. Sound production, hearing and possible interception under ambient noise conditions in the topmouth minnow *Pseudorasbora parva*. *J Fish Biol*, 69: 892-906

Sebastianutto, L.; Picciulin, M.; Costantini, M.; Rocca, M.; Ferrero, E.A. (2008) Four type of sounds for one winner: vocalizations during territorial behavior in the red-mouthed goby *Gobius cruentatus* (Pisces: Gobiidae). *Acta Etholog.*, 11 (2): 115-121.

Stacey, N.; Sorensen, P. 2006. Reproductive pheromones. In Behaviour and Physiology of Fish Edited by: Sloman, K.A.; Wilson, R.W.; Balshine, S. *Academic Press*, London 359-412.

Summers, K. 1992. Essay on contemporary issues in ethology: dart-poison frogs and the control of sexual selection. *Ethology*, 91:89-107

Svensson, O. 2004. Sexual selection in *Pomatoschistus* - nests, sperm competition, and paternal care. Stockholm University.

- Tavolga, W. 1960. Sound Production and Underwater Communication in Fishes. In: Animal Sound and Communication. Lanyon, W.; Tavolga, W. (Eds.). *Intelligencer Printing Company*, Washington, U.S.A., pp. 93-136.
- Tavolga, W. 1964. Marine Bio-Acoustics. *Pergamon Press*. Oxford, U.K.
- Tavolga, W. 1967. Marine Bio-Acoustics II. *Pergamon Press*. Oxford, U.K.
- Terleph, T.A.; Moller, P. 2003. Effects of social interaction on the electric organ discharge in a mormyrid fish, *Gnathonemus petersii* (Mormyridae, Teleostei) *J Exp Biol*, 206: 2355-2362.
- Thorson, R.F.; Fine, M.L.. 2002. Crepuscular changes in emission rate and parameters of the boat whistle advertisement call of the gulf toadfish, *Opsanus beta*. *Environ Biol Fish*, 63: 321–331.
- Triefenbach, F.; Zakon, H. 2003. Effects of sex, sensitivity and status on cue recognition in the weakly electric fish *Apteronotus leptorhynchus*. *Anim Behav*, 65:19-28.
- Wade, M.J. 1979. Sexual selection and variance in reproductive success. *Am Nat*, 114:742-747.
- Wahlberg, M.H., Westerberg, H. 2003. Sounds produced by herring (*Clupea harengus*) bubble release. *Aquat Living Res*, 16: 271–275.
- Weatherhead, P.J.; Robertson, R.J. 1979. Offspring and the polygyny threshold-sex on hypothesis. *Am Nat*, 113:201-208.
- Wilson, B.; Batty, R.S.; Dill, L.M. 2004. Pacific and Atlantic herring produce bursts pulse sounds. *Proc. Roy. Soc. Lond. B (Suppl.)* 271: 95–97.
- Winn, H.E. 1964. The biological significance of fish sounds. In: Marine Bio-Acoustics. Tavolga, W.N. (ed.). *Pergamon Press*, New York, NY: 213–231.
- Wong, R.Y.; Hopkins, C.D. 2007. Electrical and behavioral courtship displays in the mormyrid fish *Brienomyrus brachyistius*. *J Exp Biol*, 13:2244-2252.
- Wysocki, L.E. 2006. Detection of communication sounds. In: Communication in fishes Ladich, F.; Collin, S.P.; Moller, P.; Kapoor, B.G. (eds), vol.1. *Science publishers, Enfield U.S.A.*
- Zahavi, A.; Zahavi, A. 1997. The handicap principle: a missing piece of Darwin's puzzle. *Oxford University Press*, New York.
- Zelick, R., Mann, D.A., and A.N. Popper. 1999. Acoustic communication in fishes and frogs. In: Comparative Hearing: Fish and Amphibians.. Fay, R.R; Popper, A.N. (eds). *Springer-Verlag*, New York, NY, pp. 363 – 411.

Capítulo II. Escolha de parceiros sexuais pelas fêmeas de góbio de areia (*Pomatoschistus pictus*): O papel da dimensão corporal do macho e intensidade de corte.

2.1. Introdução

De acordo com Darwin, a selecção sexual surge de diferenças no sucesso reprodutivo causado pela competição entre parceiros. Os exemplos mais óbvios de selecção sexual surgem em espécies animais com marcada assimetria no investimento reprodutor, nomeadamente assimetria gamética, *i.e.* fêmeas com óvulos grandes e nutritivos, e machos com espermatozóides pequenos com baixos custos de produção. Esta anisogamia estará na base da evolução de diferenças no comportamento e morfologia de ambos os sexos (Andersson, 1994). Apesar de ambos os sexos contribuírem igualmente para o *pool* genético da prole, o investimento energético da fêmea é maior do que o do macho (Andersson & Simmons, 2006). Assim sendo, é previsível que as fêmeas sejam mais selectivas na escolha de parceiro sexual, sendo a competição por obtenção de um parceiro sexual mais intensa nos machos (Trivers, 1972; Andersson, 1994). Os peixes seguem este padrão, e os machos exibem geralmente sinais de corte e ornamentos mais elaborados (Gonçalves & Oliveira, 2010), enquanto as fêmeas seleccionam machos que maximizem o seu sucesso reprodutivo (Svensson, 2004).

A escolha da fêmea pode, por vezes, ser baseada em benefícios imediatos, seleccionando machos com base em recursos disponibilizados, tais como alimentação nupcial, cuidado parental ou qualidade do território (Andersson, 1994), ou ser baseada em traços fenotípicos, incluindo exhibições de corte, coloração nupcial, ornamentos, feromonas ou dimensão corporal (Andersson, 1994; Barbosa & Magurran, 2006; Fagundes *et al.*, 2007; Ahnesjo *et al.*, 2008; Labonne *et al.*, 2009). Todas estas características são fontes de informação sobre a qualidade do macho e que poderão contribuir para o aumento do sucesso reprodutivo da fêmea.

Por exemplo, nalgumas espécies de peixes Pomacentrídeos (*e.g.* *Stegastes partitus*), as fêmeas seleccionam machos que apresentem elevadas taxas de corte. Este parâmetro está correlacionado com a sobrevivência dos ovos, provavelmente porque os machos que cortejam mais estarão em melhor condição podendo por isso fornecer cuidados parentais mais adequados aos ovos (Knapp & Kovach, 1991). A taxa de corte pode, assim, ser considerada um indicador da condição do macho, obtendo as fêmeas benefícios directos, como um aumento na sobrevivência dos ovos, e/ou indirectos, se o maior vigor representado na elevada taxa de corte exibida pelo macho estiver dependente de influência genética. De igual forma, a dimensão corporal é outro parâmetro frequentemente utilizado na escolha de parceiro sexual por parte das fêmeas, estando este frequentemente correlacionado com características como a qualidade e intensidade das exhibições de corte (*e.g.* Gobiidae) (Cole, 1982), comportamentos

associados com a protecção dos ovos (Keenleyside *et al.*, 1985; Jones, 1981) ou o sucesso reprodutivo passado (Hastings, 1988; Ridley & Rechten, 1981). Na tabela seguinte são listados alguns exemplos de parâmetros mais comumente seleccionados por diversas espécies de peixes (Gonçalves-de-Freitas *et al.*, 2009).

Tabela 2 - Exemplos de características preferidas dos machos pelas fêmeas de diversas espécies de peixes. Adaptado de Gonçalves-de-Freitas *et al.*, 2009.

Espécie	Características dos machos preferidos	Referências
<i>Poecilia mexicana</i>	Grandes barbatanas dorsais.	Jordan <i>et al.</i> , 2006
<i>Xiphophorus birchmanni</i>	Machos bem alimentados.	Fisher & Rosenthal, 2006
<i>Rhinogobius brunneus</i>	Machos que cortejem em correntes rápidas de água.	Takahashi & Kodha, 2004
<i>Pseudotropheus zebra</i>	Grandes barbatanas pélvicas e grande número de pontos nas barbatanas anais.	Couldridge & Alexander, 2001
<i>Astatotilapia burtoni</i>	Machos territoriais em vez de não territoriais; machos territoriais mais activos.	Clemente <i>et al.</i> , 2004
<i>Poecilia reticulata</i>	Taxas altas de exibições, ornamentação mais complexa e desempenho prolongado de natação.	Nicoletto, 1993
<i>Spinachia spinachia</i>	Maior taxa de movimento corporal durante a corte.	Östlund & Ahnesjö, 1998
<i>Pomatoschistus minutus</i>	Intensidade de corte.	Forsgren, 1997
<i>Pterapogon kauderni</i>	Machos maiores.	Kolm, 2001
<i>Xiphophorus helleri</i>	Coloração preta nas espadas; espadas maiores.	Trainor & Basolo, 2006
<i>Salmo trutta</i>	Maior barbatana adiposa.	Petersson <i>et al.</i> , 1999
<i>Oreochromis mossambicus</i>	Maior tamanho corporal e maior cova para desova.	Nelson, 1995
<i>Rhodeus sericeus</i>	Maior tamanho corporal e corte mais vigorosa.	Reichard <i>et al.</i> , 2005
<i>Pseudomugil signifer</i>	Grande proporção do tempo investido na corte.	Wong, 2004
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	Machos com ninhos mais elaborados.	Ostlund-Nilsson & Holmlund, 2003

Alguns estudos mostraram ainda que a escolha de parceiro sexual por parte da fêmea pode ser influenciada por outros factores, como sejam o risco de predação (Forsgren, 1992; Berglund, 1993; Godin & Briggs, 1996; Dill *et al.*, 1999), níveis de oxigénio na água (Jones & Reynolds, 1999), densidade / disponibilidade de parceiros (Warner *et al.*, 1995; Howard & Young, 1998; Jirotkul, 1999), variação na qualidade do parceiro (Kvarnemo &

Forsgren, 2000), e constrangimentos de tempo (Slagsvold *et al.*, 1988; Backwell & Passmore, 1996).

As fêmeas de góbios (família Gobiidae) usam múltiplos critérios na sua escolha de parceiro incluindo intensidade de corte (Forsgren, 1997 b), atributos do ninho (Svensson, 2004), tamanho corporal (Forsgren, 1992; Kvarnemo & Forsgren, 2000), coloração nupcial (Forsgren, 1992) e provavelmente a produção do som durante a inspecção do ninho (Lindström & Lugli, 2000). O góbio comum, *Pomatoschistus microps*, pode ser considerado um bom exemplo. Nesta espécie os machos maiores defendem normalmente territórios melhores e com maior número de locais de oviposição atraindo um maior número de fêmeas do que os machos mais pequenos (Bisazza *et al.*, 1989; Svensson, 2004). Adicionalmente, também os sinais acústicos de corte produzidos dentro do ninho pelos machos desta família poderão desempenhar algum papel na escolha de parceiros sexuais por parte das fêmeas, uma vez que estas entram em vários ninhos antes de decidirem em qual desovar (e.g. Lindström & Lugli, 2000). Alguns estudos recentes sugerem que as características dos sons emitidos pelos machos de góbios de areia poderão fornecer à fêmea informação acerca do tamanho do macho. Por exemplo, *P. pictus* emite dois tipos de sons em contexto de corte (*drums* e *thumps*) e só um (*drums*) em interacções agonísticas (Amorim & Neves, 2007). Nesta espécie, o número de pulsos e a duração de *drums* agonísticos aumentam significativamente com o tamanho do macho (Amorim & Neves, 2008). Os sons de corte de *P. pictus*, nomeadamente *thumps*, são produzidos a taxas mais elevadas e em episódios mais longos por machos maiores e mais activos (Amorim & Neves, 2007). Assim, os sons poderão ser um sinal indicador da qualidade do macho, e características como a taxa de emissão de som poderão ser alvo de selecção por parte das fêmeas, conjuntamente com a dimensão e a actividade de corte do macho. Apesar de existirem alguns estudos que demonstram a preferência das fêmeas pela maior dimensão do macho e por intensidade de corte elevada, nomeadamente em góbios (Lugli *et al.*, 1996; Andersson, 1994; Ahnesjö *et al.*, 2008; Cole, 1982), ainda não é conhecido o papel relativo de diferentes tipos de sinais (e.g. visuais e acústicos) na escolha de parceiros pelas fêmeas. Assim sendo, os objectivos deste trabalho foram, utilizando uma espécie vocal (*P. pictus*) em que os sinais acústicos de corte podem potencialmente indicar a qualidade do macho, testar: 1) se existe preferência por parte das fêmeas em relação ao tamanho dos machos e, 2) se a actividade vocal e intensidade de corte dos machos poderá determinar o seu sucesso reprodutor.

2.2.Métodos

2.2.1.Captura e manutenção dos peixes

Este estudo foi realizado no período de Janeiro a Julho de 2011 na Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa. Os peixes foram capturados utilizando redes de mão e durante a época reprodutiva na Parede (Cascais) em águas pouco profundas (30 cm a 50 cm) (fig. 6c), e na costa da Arrábida (fig. 5a) em mergulho entre os 2 m e os 9 m. Machos e fêmeas foram separados em tanques de *stock* (10 l, salinidade de 28-33 g/l) equipados com filtros biológico (composto por bio-bolas), escumador (Tunze 9006), ultravioletas e uma bomba de circulação comuns, aerificados e com temperatura controlada através de um refrigerador (Hailea 1000A 1HP) (fig. 6b). O fundo de cada aquário foi coberto com areia da praia e foram fornecidos abrigos (conchas) para os machos fazerem o ninho. O sexo foi reconhecido através da examinação da papila externa, que é arredondada nas fêmeas e longa e pontiaguda nos machos, e pela presença de cores nupciais (Bouchereau *et al.*, 2003). As fêmeas grávidas podiam também ser reconhecidas pelo seu ventre dilatado. Os peixes foram mantidos a 15° - 16° C, com fotoperíodo natural e foram alimentados diariamente com uma mistura de camarão, mexilhão e amêijoia.

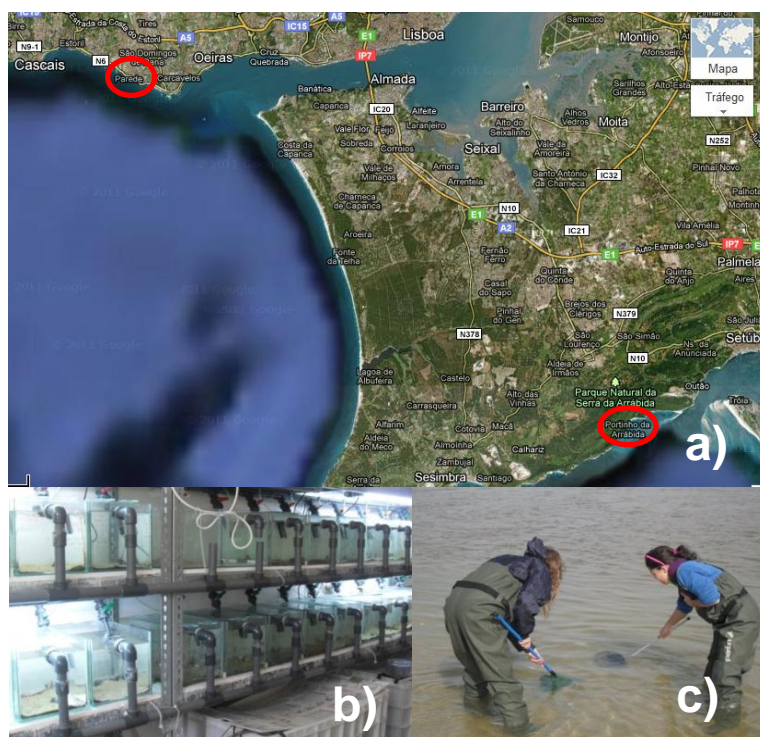


Fig. 6- a) Localização dos locais de colheita da espécie (Parede e Portinho da Arrábida); b) aquários “stock”; c) método de colheita dos peixes usando redes de mão.

2.2.2. Delineamento do estudo e arranjo experimental

A preferência da fêmea por machos de diferentes tamanhos foi testada em aquários experimentais, com a dimensão de 25,5 x 51 x 30,5 cm e com a capacidade para 35 l de água, cada um dividido em três compartimentos através de partições perfuradas de plástico acrílico transparente. Cada aquário experimental estava equipado com um filtro interior (Hailea HL BT800), que garantia a aeração por circulação de água superficial. A temperatura foi mantida a 16° C por refrigeradores (Hailea HC300A) ligados a bombas externas de circulação (Hailea Power Head XS6520). O fundo do aquário encontrava-se revestido por cerca de 2 cm de areia, e nos compartimentos laterais, onde se encontravam os machos de diferentes tamanhos, colocaram-se ninhos artificiais, constituídos por tubos de PVC opaco. Os aquários experimentais estavam isolados das vibrações conduzidas através do pavimento por dois níveis de elementos de espuma de borracha intercalados em duas pedras mármore. A atenuação proporcionada por este sistema permitiu melhorar significativamente a relação sinal/ruído durante os registos aumentando, portanto, a qualidade das gravações dos sons dos peixes. Pela mesma razão os sistemas de aeração e fluxo de água eram desligados durante as experiências.

Dois dias antes das experiências eram retirados dois machos do aquário de stock, que eram pesados, medidos e colocados aleatoriamente nos compartimentos laterais, para que se aclimassem e ocupassem o ninho. Os machos seleccionados para cada teste apresentavam um quociente do seu comprimento standard (CS) de cerca de 20 % (CS grande / CS pequeno = 0.2), ou seja em cada teste a diferença de CS entre o macho grande e o pequeno foi cerca de 20% . Nestes testes o CS dos machos pequenos variou entre os 2,5 e 3,4 cm ($\bar{x} \pm SD = 2,75 \pm 0,25$ cm), e dos machos grandes variou entre 3,1 e 4,2 cm ($\bar{x} \pm SD = 3,7 \pm 0,31$ cm).

Para estimular a construção do ninho pelos machos, era colocada uma fêmea grávida (fêmea focal) no compartimento central durante esses dois dias. Os testes foram efectuados apenas quando ambos os machos exibiam comportamento territorial. Dado que a preferência da fêmea pode ser influenciada pela construção do ninho (Svensson & Kvarnemo, 2005), a cobertura de areia dos ninhos dos dois machos foi igualizada antes das experiências. Cada par de machos-estímulo foi utilizado em três testes, após os quais regressaram aos tanques de *stock*.

Cerca de 60 minutos antes de cada teste, a fêmea focal era substituída por uma fêmea-estímulo na zona central do aquário, de forma a permitir a sua aclimação. Nesta altura eram também substituídas as partições transparentes por partições opacas, tendo as fêmeas-estímulo apenas acesso visual aos machos no início do teste. As fêmeas-

estímulo eram pesadas e medidas após cada teste. Nos testes foram apenas utilizadas fêmeas com o ventre dilatado (grávidas).

2.2.3. Observações comportamentais

Todas as experiências foram acompanhadas de registos simultâneos em vídeo e em dois canais de áudio (ver abaixo). As imagens de vídeo foram obtidas com a câmara (Sony DCR-HC39) posicionada a cerca de 50 cm do aquário experimental. O sinal de vídeo foi digitalizado (Pinnacle Dazzle DVD Recorded Plus) e gravado juntamente com ambos os canais de áudio num PC através do Windows Media Player. Todos os vídeos foram posteriormente analisados com um programa de análise comportamental (EthoLog 2.2) tendo sido registadas as frequências e durações dos comportamentos abaixo referidos.

Para estimar a preferência da fêmea por cada um dos machos foi medido o seu tempo de permanência em cada uma das zonas de resposta durante 20 minutos. Foram definidas como zonas de resposta as áreas no compartimento central com 5 cm de largura (correspondendo aproximadamente ao comprimento de um peixe) adjacentes às partições, *i.e.* junto aos compartimentos dos machos (ver fig.7).

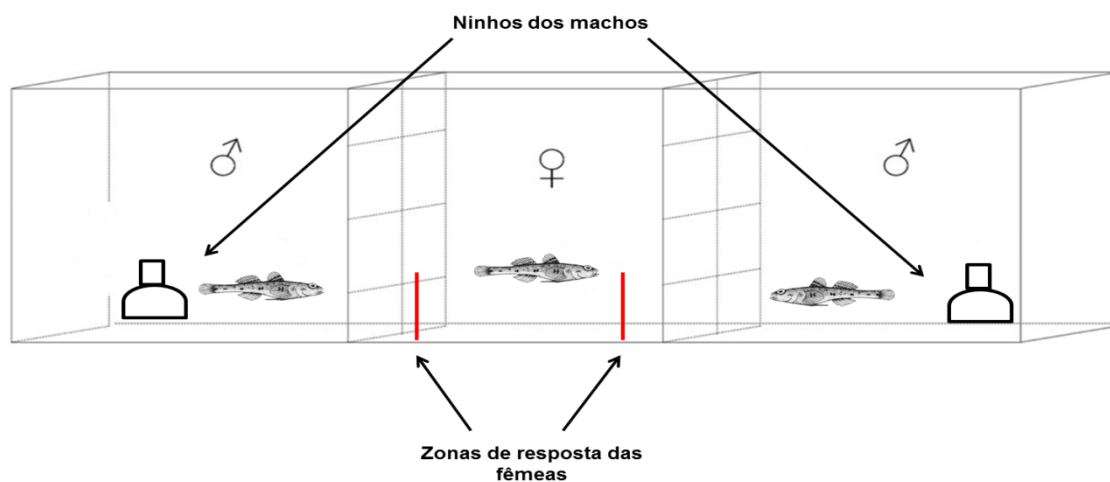


Fig. 7 – Representação esquemática dos tanques experimentais com a indicação das zonas de resposta

Foram ainda contabilizados por observação focal a posição das fêmeas (dentro e fora das zonas de resposta) e os comportamentos de natação na coluna de água, esfregar a barriga na areia e posição estacionária. Para os machos foram contabilizadas as vocalizações (*drums* e *thumps*, já descritos anteriormente) bem como os comportamentos de corte incluindo:

Aproximação à fêmea – o macho dá pequenos saltos na direcção da fêmea, enquanto ondula o corpo e barbatanas. As barbatanas pélvicas, peitorais e dorsais estão erectas e a cabeça com manchas escuras. Este comportamento é frequentemente seguido por *lead display* (Amorim & Neves, 2007).

Entrada no ninho – Comportamento normalmente antecedido por *lead display*. O macho entra e sai do ninho várias vezes, ondulando o corpo e tentando que fêmea o siga para desovar (Amorim & Neves, 2007).

Construção do ninho – através de movimentos da barbatana caudal, o macho cobre o ninho quase completamente com areia, deixando uma pequena abertura no topo. (Bolgan, 2011)

Quiver – o macho abana o corpo em conjunto com as barbatanas peitorais erectas, tendo normalmente a boca e o opérculo abertos. Este comportamento pode ter lugar no ninho ou na arena (Bolgan, 2011)

Eight display – o macho nada rapidamente à frente da fêmea num padrão que se assemelha a um oito (Amorim & Neves, 2007).

Lead display - o macho move-se na direcção e ao redor da fêmea, tentando encaminhá-la para o ninho. Enquanto faz isto, ondula o corpo e nada com as barbatanas peitorais, caudais e dorsais todas erectas (Amorim & Neves, 2007).

Nest rubbing - o macho vira-se de cabeça para baixo dentro do ninho e esfrega o ventre no topo do ninho. Noutros góbios, este comportamento está associado com a preparação do muco que contém esperma activo (Svensson & Kvarnermo, 2005; Amorim & Neves, 2007) e feromonas que são usadas na atracção das fêmeas e na sincronização da desova (Locatello *et al.*, 2002; Amorim & Neves, 2007).

Esfregar barriga na areia - macho ou fêmea aproximam-se do fundo e esfregam o ventre na areia. Este comportamento poderá estar associado com preparação para a desova (Observação pessoal).

Para contabilizar a intensidade de corte dos machos somaram-se todos os comportamentos de corte dos machos que ocorreram numa sessão.

2.2.4. Gravação de sons

Para estudar a emissão de sons de corte emitidos pelos machos foi colocado um ninho artificial em cada um dos compartimentos laterais, com um desenho que permitia a colocação dos hidrofones próximo do macho nidificante sem o perturbar (fig. 8). Esse ninho possuía um tubo vertical (chaminé) onde o hidrofone podia ser acomodado

permanecendo a uma distância curta do macho, permitindo assim a obtenção de gravações das vocalizações emitidas dentro do ninho com elevada relação sinal/ruído.

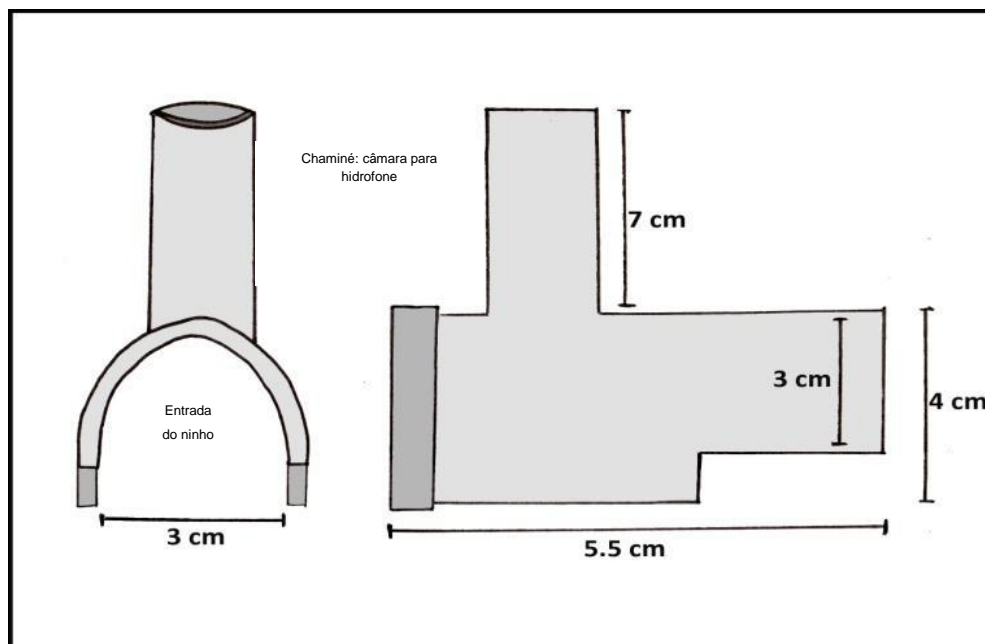


Fig. 8 - Ninho desenhado especialmente de forma a permitir a colocação do hidrofone. Ilustração por Marta Bolgan, 2011.

Os sons foram registados com dois hidrofones diferentes mas suficientemente pequenos para serem introduzidos na chaminé dos ninhos. Um dos hidrofones (Brüel & Kjør 8104, sensibilidade: $-205 \text{ dB re } 1\text{V}/\mu\text{Pa}$; frequência de resposta de: 0.1 Hz a 180 KHz) apresenta uma resposta plana numa elevada gama de frequências e encontra-se calibrado. O outro hidrofone e respectivo circuito de condicionamento de sinal foi construído no laboratório, e apresenta uma resposta relativamente plana às frequências a que os peixes vocalizam (Fonseca & Maia Alves, 2011). O *output* dos condicionadores de sinal dos dois hidrofones, para além de ter sido gravado juntamente com o sinal de vídeo, foi simultaneamente digitalizado com elevada qualidade (Edirol UA-25, Roland, Japan; 16 bit, 48 kHz) e registado num PC através do programa Adobe Audition 2.0 para posterior análise detalhada.

2.2.5. Análise estatística

A análise estatística foi feita com o programa Statistica 10 versão para Windows. Recorreu-se a estatística paramétrica quando os pressupostos para os testes paramétricos foram cumpridos. De outro modo utilizou-se estatística não paramétrica.

Para as experiências serem considerados para análise estabeleceu-se o critério *a priori* de permanência da fêmea focal nas zonas de resposta superior a 25% do tempo total de observação (Borg *et al.*, 2006).

Para avaliar a preferência das fêmeas por machos de diferente dimensão foi utilizado o teste de Wilcoxon com amostras emparelhadas em que se comparou o tempo de passado nas duas áreas de resposta. Foram realizados testes de correlação de Spearman para averiguar se o tempo que a fêmea passou com machos grandes ou pequenos estava correlacionado com factores como o comprimento standard (CS) dos machos e da fêmea, com o tamanho relativo da fêmea em relação ao do macho (quociente do CS da fêmea pelo CS do macho), a condição do macho (C, calculado como $C = (\text{peso}/\text{SL}^3) \times 100$), o número total de exhibições de corte por parte do macho e o grau de gravidez da fêmea (G) calculado como $G = ((\text{Peso}/ \text{SL}^3) \times 100)$. Foram ainda realizados testes de correlação de Spearman para averiguar se o tempo passado com o macho preferido estava correlacionado (1) com várias medidas de qualidade do mesmo como o CS, condição, frequência total de corte, (2) com medidas de qualidade relativa entre os dois machos, como os quocientes do CS, da condição e da frequência de corte entre o macho preferido e o outro macho, e (3) com medidas da fêmea, como o CS, e o seu grau de gravidez.

Testou-se o efeito dos factores tamanho relativo do macho e nível de corte (alto ou baixo em relação ao valor da mediana) no tempo passado com o macho preferido com uma ANOVA factorial. Verificou-se que foram cumpridos os pressupostos da homogeneidade das variâncias com um teste Levene e da normalidade dos dados (com um Papel de Probabilidades).

2.3.Resultados

Do total de fêmeas testadas, duas não foram contabilizadas visto que não cumpriam o critério de 25% de tempo de permanência nas zonas de resposta. Deste modo, a amostra final foi constituída por 21 fêmeas.

O tempo despendido pela fêmea com o macho maior variou entre os 40,66 e os 1087,26 segundos ($\bar{x} \pm DP = 336,99 \pm 257,82$ segundos), enquanto que com o menor variou entre os 9,57 e 801,42 segundos ($\bar{x} \pm DP = 351,73 \pm 217,33$ segundos). O tempo passado com o macho preferido (*i.e.* o macho com quem passou mais tempo independentemente do tamanho, variou entre os 239,72 e 1087,26 segundos ($\bar{x} \pm DP = 544,80 \pm 187,41$ segundos)

Não foram encontradas diferenças significativas no tempo que cada fêmea passou junto a machos grandes e pequenos (Wilcoxon: N=21; T=111,0; $p>0,05$) pelo que as fêmeas não pareceram demonstrar preferência pela dimensão do macho.

Através da análise dos dados na tabela 2 podemos constatar que o tempo que a fêmea passa com o macho de maiores dimensões está apenas relacionado com o tempo total nas zonas de resposta ($p=0,017$). No entanto, não está correlacionado com nenhum outro factor considerado.

Tabela 2 – Correlação de Spearman entre o tempo passado com o macho grande (N=21) e possíveis factores que influenciam escolha da fêmea. r- Coeficiente de correlação de Spearman.

Variáveis	r	p
Total de tempo nas zonas de resposta	0,52	0,017
Comprimento standard do macho grande	-0,22	0,33
Condição do macho grande	-0,012	0,96
Frequência total de corte do macho grande	0,36	0,11
Frequência total de corte dos dois machos	-0,067	0,77
Grau gravidez da fêmea (G)	-0,29	0,21
Comprimento standard da fêmea	-0,38	0,09
Rácio entre o comprimento standard do macho grande e da fêmea	-0,07	0,75

Ao realizar a mesma análise em relação ao macho pequeno (tabela 3) constatamos que o tempo que a fêmea passa com este macho parece estar relacionado com as suas exhibições de corte (frequência total de corte do macho pequeno).

Tabela 3 - Correlação entre tempo passado com macho pequeno (N=21) e possíveis factores que influenciam a escolha da fêmea. r- Coeficiente de correlação de Spearman.

Variáveis	r	p
Total tempo zonas de resposta	0,16	0,49
Comprimento Standard do macho pequeno	0,08	0,74
Condição do macho pequeno	-0,01	0,97
Total corte do macho pequeno	0,60	0,004
Total de corte dos dois machos	0,29	0,21
Grau gravidez da fêmea (G)	0,17	0,47
Comprimento Standard da fêmea	0,15	0,07
Diferença de comprimento standard entre macho pequeno e fêmea	0,07	0,75

As correlações anteriores apontam para a intensidade de corte como um possível factor importante no tempo de permanência junto dos machos pequenos sugerindo que pode haver uma interacção entre as variáveis dimensão do macho e intensidade de corte. Deste modo, realizou-se uma ANOVA factorial com 2 factores, tamanho do macho preferido (pequeno ou grande) e nível de corte (alta ou baixa, ou seja acima ou abaixo do valor da mediana). Observou-se que as fêmeas passavam mais tempo com o macho preferido quando apresentavam níveis altos de corte (ANOVA: $F_{1,17}=4,73$; $p=0,04$; fig. 9). Não se observaram diferenças significativas para a variável tamanho do macho (ANOVA: $F_{1,17}=0,05$; $p>0,05$), nem para a interacção entre os dois factores (ANOVA: $F_{1,17}=0,79$; $p>0,05$), sugerindo que, destes factores, só o nível de corte está sujeito à preferência da fêmea.

Consistentemente, o tempo que a fêmea passou com o macho preferido aumentou com a frequência de corte do macho preferido ($r=0,50$; $p<0,05$), bem como a frequência total de corte dos dois machos ($r=0,48$; $p<0,05$, tabela 4). Observou-se ainda que o tempo passado com o macho preferido está marginalmente correlacionado com a diferença de corte dos dois machos ($p=0,08$, tabela 4) sugerindo que a fêmea avalia as diferenças de motivação dos machos para acasalar. O tempo passado junto ao macho preferido está ainda positivamente correlacionado com o tempo passado nas zonas de resposta ($r=0,77$; $p<0,001$, tabela 4), o que possivelmente traduz a motivação da fêmea, uma vez que o

tempo nas zonas de resposta aumenta com o nível de corte a que esta é sujeita (N=21, $r = 0,47$, $p < 0,05$).

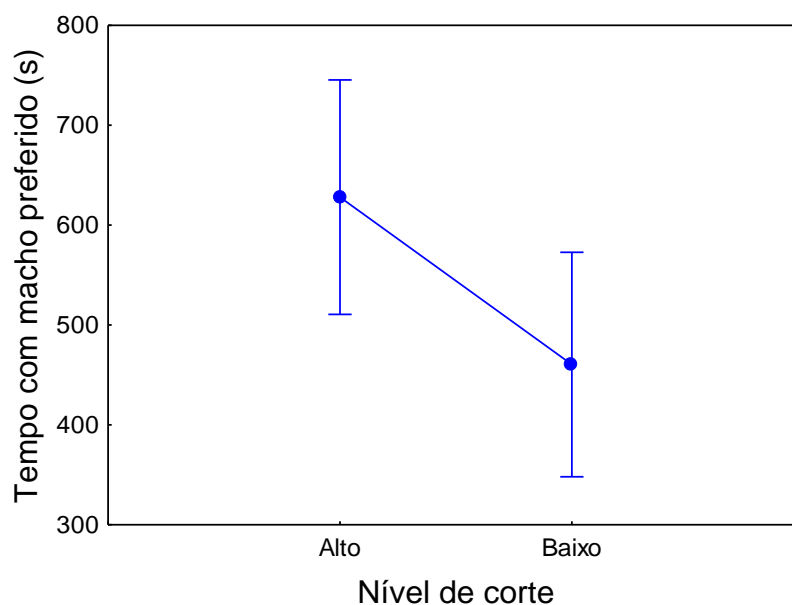


Fig. 9- Comparação entre o tempo passado com o macho preferido quando exhibe níveis de corte altos ou baixos. Os círculos representam médias e as barras de erro intervalos de confiança a 95%.

Tabela 4 - Correlação entre o tempo passado com o macho preferido (N=21) e diversos factores analisados. r- coeficiente de correlação de Spearman.

Variáveis	r	p
Total tempo zonas de resposta	0,73	0,0001
Comprimento standard do preferido	0,05	0,84
Condição do macho preferido	-0,06	0,81
Total corte do macho preferido	0,50	0,02
Diferença de corte dos dois machos	0,39	0,08
Diferença de comprimento standard dos dois machos	0,11	0,64
Diferença de condição dos dois machos	0,24	0,30
Total de corte dos dois machos	0,48	0,03
Grau gravidez da fêmea (G)	-0,14	0,55
Comprimento standard da fêmea	-0,07	0,77
Diferença de comprimento standard entre macho preferido e fêmea	-0,04	0,88
Diferença comprimento standard entre macho não preferido e fêmea	-0,04	0,86

Por último, colocou-se a hipótese de que a produção de sons (comunicação acústica) pelos machos pudesse ser o factor de atracção do interesse das fêmeas, fazendo com que estas permanecessem junto deles. De todos os machos analisados, apenas quatro produziram sons, sendo que a fêmea passou consideravelmente mais tempo com três dos machos que produziram sons do que com o macho alternativo, que não produziu sons (tabela 5).

Tabela 5 - Relação entre sons produzidos por machos e o tempo que fêmea permaneceu junto a cada macho

Sons produzidos	Nº sons produzidos	Macho que produziu	Tempo fêmea com macho grande (s)	Tempo fêmea com macho pequeno (s)
Thumps	8	Macho grande	336,99	466,9
Thumps	26	Macho grande	1059,98	84,7
Thumps	99	Macho grande	1087,26	9,57
Thumps	17	Macho pequeno	212,87	801,42

2.4. Discussão

Este trabalho pretendeu verificar se a dimensão dos machos seria um factor importante na escolha de parceiros pelas fêmeas de *P. pictus*. Os resultados sugerem que as fêmeas desta espécie não exibem preferência pela dimensão corporal nos machos. De facto, as fêmeas escolheram igualmente machos mais pequenos ou maiores (aproximadamente 50% para cada caso) indicando aleatoriedade na escolha pela dimensão relativa do macho. Em contraste, o tamanho corporal é uma característica importante para o sucesso reprodutivo em espécies aparentadas, como *P. minutus* (Lindström, 1992; Forsgren, 1997). De facto, em muitas espécies de teleósteos, o tamanho corporal está positivamente correlacionado com outras características importantes para as fêmeas, tais como a qualidade e intensidade das exhibições de corte (Cole, 1982), os comportamentos associados com a protecção dos ovos ou o sucesso reprodutivo passado (Kodrick-Brown, 1990). Os resultados obtidos parecem assim sugerir que outros sinais indicativos da condição do macho possam ser mais informativos do que o tamanho na avaliação e escolha do macho por parte da fêmea (Borg *et al.*, 2010). Tal avaliação pode, por exemplo, ser baseada na intensidade de corte, como foi sugerido por Forsgren (1997b) em relação ao caboz de areia (*P. minutus*). Alternativamente, a escolha pelas fêmeas poderá basear-se em múltiplos sinais, dando peso a outros aspectos, como por exemplo a carga parasitária não medida no presente estudo (Jennions & Petrie, 1997). A utilização de múltiplos parâmetros é notória nos guppies (*Poecilia reticulata*), onde o tamanho da barbatana caudal, a taxa de corte, a carga parasitária, os diferentes padrões de coloração e o tamanho corporal, estão todos implicados na escolha de parceiro sexual pela fêmea (Endler, 1995).

Uma vez que não se verificou preferência pela dimensão relativa dos machos, colocou-se a hipótese de que a fêmea podia estar a escolher com base noutras características do macho. Assim, correlacionou-se o tempo despendido pela fêmea com cada um dos machos (grande e pequeno), com diversos factores, como por exemplo o factor de condição dos machos (factor de condição de Fulton K), o total de corte exibida quer por cada um deles quer pelos dois em conjunto, o grau de gravidez da fêmea, o comprimento standard da fêmea, a diferença entre o comprimento dos machos (grandes e pequenos) e das fêmeas e o total de tempo despendido na zona de resposta (que traduz motivação por parte da fêmea).

O tempo de permanência das fêmeas junto a machos pequenos encontrava-se correlacionado com o total das suas exhibições de corte. No mesmo sentido, os resultados da ANOVA factorial (com 2 factores, tamanho do macho preferido e nível de corte), que

mostraram que as fêmeas passavam mais tempo com o macho preferido caso fossem mais cortejadas, reforçam a hipótese de que o nível de corte é o factor crucial na escolha de parceiro sexual pelas fêmeas do góbio de areia. Os nossos resultados sugerem, assim, que o esforço de corte pelo macho poderá ser um parâmetro relevante na escolha por parte da fêmea, como observado com os guppies por Endler (1995), Iguualmente, Cole (1982) aponta a intensidade de corte como um factor de preferência por parte das fêmeas de *Coryphopterus nicholsi*.

Foram também encontradas correlações positivas e significativas entre o tempo que a fêmea passou com o macho grande e com o macho preferido (grande ou pequeno) e o tempo total dispendido nas zonas de resposta. No entanto isto poderá ser sobretudo atribuído à motivação geral da fêmea (e.g. para desovar) passando por isso mais tempo na proximidade dos machos.

É provável, à semelhança do que acontece com outros teleósteos (Forsgren, 1997; Fisher & Rosenthal, 2006; Jordan *et al.*, 2006; Kolm, 2001; Ostlund-Nilsson & Holmlund, 2003) que existam outros parâmetros relevantes na escolha de machos pela fêmea. Efectivamente, e apesar de poucos machos terem produzido sons, os resultados obtidos (tabela 4) parecem apontar para a existência de alguma influência da actividade acústica nesta escolha. Do total de machos usados para testar a preferência das fêmeas, foi detectada a emissão de sons durante as experiências em apenas quatro, sendo que em três destes casos a fêmea permaneceu longos períodos de tempo junto dos machos produtores de som. Com todas as reservas que a reduzida dimensão da amostra aconselha, estes dados parecem apontar para um possível papel da comunicação acústica na escolha do macho por parte da fêmea. De acordo com Andersson (1994) e Bradbury & Vehrencamp (1998) os sinais acústicos são bons exemplos de caracteres sexuais seleccionados por fêmeas de diversos *taxa* para identificar, localizar e escolher potenciais parceiros.

É ainda de salientar que o tempo de permanência nas zonas de resposta, por si só, pode não ser uma boa medida para avaliar a escolha da fêmea. A fêmea, ao aproximar-se de cada um dos machos, pode carecer de informação relevante devido à impossibilidade de contacto físico imposta pelo delineamento experimental escolhido. Por exemplo, a troca de informação química pode estar consideravelmente afectada, devido à existência de partições. Isto pode ser um factor a ter em conta, visto que através da libertação de produtos químicos para a água muitas espécies obtêm informação, por exemplo, acerca da condição a nível imunitário ou do estado nutricional dos machos (Fisher, 2006), ou sobre o nível de dominância (Barata, 2007).

Concluindo, este estudo sugere que as fêmeas de *P. pictus* não escolhem o macho pelo tamanho corporal mas poderão basear-se noutras características, como por exemplo a

frequência de corte. Este parâmetro pode ser escolhido em detrimento de outros ou pode ser escolhido conjuntamente com outros – escolha baseada em sinais múltiplos. A actividade vocal poderá, tal como outros parâmetros, ser um factor a influenciar a escolha, mas serão necessários mais estudos para determinar qual o seu papel na escolha dos machos por parte da fêmea.

2.5.Bibliografia

Ahnesjö, I.; Forsgren, E.; Kvarnemo, C. 2008. Variation in sexual selection in fishes. Pp 303-335. In: Fish Behaviour. Maghagen, C.; Braithwaite, V.; Forsgren, E.; Kapoor, B.G. (eds.). *Science Publishers*, New Hampshire. 648p.

Amorim, M.C.P.; Neves, A.S.M. 2007. Acoustic signalling during courtship in the painted goby, *Pomatoschistus pictus*. *J Mar Biol Ass UK*, 87: 1017-1023.

Amorim, M.C.P.; Neves, A.S.M. 2008. Male painted gobies (*Pomatoschistus pictus*) vocalise to defend territories. *Behaviour*, 145: 1065-1083

Amundsen, T.; Forsgren, E. 2001. Male mate choice selects for female coloration in a fish. *Proc Nat Acad Sci USA.*, 98:13155-13160.

Andersson, M. 1994. Sexual Selection. *Princeton University Press*, Princeton.

Andersson, M. 1984. Sexual selection. Princeton University Press, Princeton.

Andersson, S; Simmons, L.W. 2006. Sexual selection and mate choice. *Trends Ecol Evol*, 21:296-302.

Backwell, P. R. Y.; Passmore, N. I. 1996. Time constraints and multiple choice criteria in the sampling behaviour and mate choice of the fiddler crab, *Uca annulipes*. *Behav Ecol Sociobiol*, 38: 407-416.

Bakker, T. C. M.; Kunzler, R.; Mazzi, D. 1999. Sexual selection: condition-related mate choice in sticklebacks. *Nature*, 401, 234.

Barata, E.N.; Hubbard, P.C.; Almeida, O.C.; Miranda, A.; Canário, A.V.M. 2007. Male urine signals social rank in the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *BMC Biology*, 5:54.

Barbosa, M.; Magurran, A.E. 2006. Female mating decisions: maximizing fitness? *J Fish Biol*, 68:1636-1661.

Berglund, A. 1993. Risky sex: male pipefishes mate at random in the presence of a predator. *Anim Behav*, 46, 169-175

Bisazza, A.; Marin, G. 1991. Male size and female mate choice in the eastern mosquitofish (*Gambusia holbrooki*: Poeciliidae). *Copeia*, 3: 730-735.

Bisazza, A.; Marconato, A.; Marin, G. 1989. Male competition and female choice in *Padogobius martensi* (Pisces, Gobiidae). *Anim behav*, 38:406-413

Bolgan, M. 2011. Comparative analysis of the reproductive behaviour of two closely related species, *Pomatoschistus pictus* and *Pomatoschistus microps* with particular reference to acoustic communication. Tesi sperimentali. Università Degli Studi Di Trieste.

Bradbury J.W., Vehrencamp S.L. 1998. Principles of animal communication. *Sinauer Associates, Inc.* 483 pp.

- Clement, T.S.; Grens, K.E.; Fernald, R.D. 2004. Female affiliative preference depends on reproductive state in the African cichlid fish. *Behav Ecol*, 16:83-88.
- Cole, K.S. 1982. Male reproductive behavior and spawning success in a temperate zone goby, *Coryphopterus nicholsi*. *Can J Zool*. 60: 2309-2316.
- Couldridge, V.C.K.; Alexander, G.J. 2001. Does the time spent near a male predict female mate choice in Malawian cichlid? *J Fish Biol*, 59: 667-672.
- Dill, L. M.; Hedrick, A. V.; Fraser, A. 1999. Male mating strategies under predation risk: do females call the shots? *Behav Ecol*, 10: 452-461.
- Endler, J. (1995). Multiple trait coevolution and environmental gradients in guppies. *Trends Ecol Evol*, 10: 22-29.
- Fagundes, T.; Gonçalves, D.M.; Oliveira, R.F. 2007. Female mate choice and mate search tactics in a sex role reversed population of the peacock blenny *Salaria pavo* (Risso, 1810) *J Fish Biol*, 71: 77-89.
- Fisher, H.S.; Rosenthal, G.G. 2006. Female swordtail fish use chemical cues to select well-fed mates. *Anim Behav*. 72: 721-725
- Fonseca, P.J., Maia Alves, J. 2011. Electret capsule hydrophone: a new underwater sound detector. Patent Application nr. 105933.
- Forsgren, E. 1992. Predation risk affects mate choice in a gobiid fish. *Am Nat*, 140: 1041-1049.
- Forsgren, E. 1997. Mate sampling in a population of sand gobies. *Anim Behav*, 53: 267-276.
- Godin, J.-G. J.; Briggs, S. E. 1996. Female mate choice under predation risk in the guppy. *Anim Behav*, 51, 117-130.
- Gonçalves-de-Freitas, E.; Castro, A.L.S.; Carvalho, T.B.; Zocoler de Mendonça, F. 2009. Sexual selection and social hierarchy in fishes. *Oecol Bras*, 13: 80-88.
- Hastings, P.A. 1988. Correlates of male reproductive success in the browncheek blenny, *Acanthemblemaria crockery* (Blennioidea: Chaenopsidae). *Behav Ecol Sociobiol*, 22:95-102.
- Howard, R. D.; Young, J. R. 1998. Individual variation in male vocal traits and female mating preferences in *Bufo americanus*. *Anim Behav*, 55: 1165-1179.
- Itzkowitz, M.; Haley, M. 1999. Are males with more attractive resources more selective in their mate preferences? A test in a polygynous species. *Behav Ecol*, 10: 366-371.
- Jones, G.P. 1981. Spawning site choice by female *Pseudolabrus celidotus* (Pisces: Labridae) and its influence on mating system. *Behav Ecol Sociobiol*, 8:129-142.
- Jones, J. C.; Reynolds, J. D. 1999. The influence of oxygen stress on female choice for nest structure in the common goby. *Anim Behav*, 57: 189-196.
- Jordan, R.; Hoewe, D.; Knight, T.; Gould, J. 2006. Female choice linked to male dorsal fin height in a shortfin molly. *J Ethol*, 24:301-304.

- Jirotkul, M. 1999. Operational sex ratios influence preference and male-male competition in guppies. *Anim Behav*, 58: 287-294.
- Keenleyside, M.H.A.; Rangle, R.W.; Koppers, B. U. 1985. Female choice and male parental defense behavior in the cichlid fish *Cichlasoma nigrofasciatum*. *Can J Zool*, 63:2489-2493.
- Labonne, J.; Augery, M.; Parade, M.; Brinkert, S.; Prevost, E.; Hé Land, M.; Beall, E. 2009. Female preference for male body size in brown trout, *Salmo trutta*: is big still fashionable? *Anim Behav*, 72: 263-273.
- Lindström, K., 1992. Female spawning patterns and male mating success in the sand goby *Pomatoschistus minutus*. *Mar Biol*, 113: 475–480.
- Lindstrom, K.; Lugli, M. 2000. A quantitative analysis of the courtship acoustic behaviour and sound patterning in male sand goby, *Pomatoschistus minutus*. *Environ Biol Fish*, 58: 411-424.
- Locatello, L., Mazzoldi, C. & Rasotto, M.B., 2002. Ejaculate of sneaker males is pheromonally inconspicuous in the black goby, *Gobius niger* (Teleostei, Gobiidae). *J Exp Zool*, 293: 601–605.
- López, S. 1999. Parasitized female guppies do not prefer showy males. *Animal Behaviour*, 57: 1129-1134.
- Kvarnemo, C.; Forsgren, E. 2000. The influence of potential reproductive rate and variation in mate quality on male and female choosiness in the sand goby, *Pomatoschistus minutus*. *Behav Ecol Sociobiol*, 48: 378-384.
- Knapp, R. A.; Kovach, J.T. 1991. Courtship as an honest indicator of male parental quality in bicolor damselfish, *Stegastes partitus*. *Behav Ecol*, 2: 295-300.
- Kodric-Brown, A.; Nicoletto, P. F. 2001. Age and experience affect female choice in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Am Nat*, 157: 316-323.
- Kolm, N.2001. Females produce larger eggs for large males in paternal mouthbrooding fish. *Proc R Soc Lond*, 268:2229-2234.
- Kraak, S. B.; Bakker, T. C. M. 1998. Mutual mate choice in sticklebacks: attractive males choose big females, which lay big eggs. *Anim Behav*, 56, 859-866.
- Møller, A. P.; Pomiankowski, A. 1993. Why have birds got multiple sexual ornaments? *Behav Ecol Sociobiol*, 32: 167-176.
- Nelson, C.M.1995. Male size, spawning pit size and female choice in a lekking cichlid fish. *Anim Behav*, 50:1587-1599.
- Nicoletto, P.F. 1993. Female sexual-response to condition-dependent ornaments in the guppy, *Poecilia reticulata*. *Anim Behav*, 46:441:450.
- Ostlund, S.; Ahnesjö, I.1998. Female fifteen-spined sticklebacks prefer better fathers. *Anim Behav*, 56: 1177-1183.

- Ostlund- Nilsson, S.; Holmlund, M. 2003. The artistic three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*). *Behav Ecol Sociobiol*, 53:214-220.
- Petersson, E.; Jarvi, T.; Olsén, H.; Mayer, I.; Hedenskog, M. 1999. Male-male competition and female choice in brown trout. *Anim Behav*, 57:777-783.
- Reichard, M.; Bryja, J.; Ondracková, M.; Dávidová, M.; Kaniewwska, P.; Smith, C. 2005. Sexual selection for male dominance reduces opportunities for female mate choice in the European bitterling (*Rhodeus sericus*). *Mol Ecol*, 14:1533-1542.
- Ridley, M.; Rechten, C. 1981. Female sticlebacks prefer to spawn with males whose nest contain eggs. *Behaviour*. 76: 999-1004.
- Slagsvold, T.; Lifjeld, J. T., Stenmark, G.; Breiehagen, T. 1988. On the cost of searching for a mate in female pied flycatchers *Ficedula hypoleuca*. *Anim Behav*, 36: 433-442.
- Svensson, O., Kvarnemo, C. 2003. Sexually selected nest-building -*Pomatoschistus minutus* males build smaller nest-openings in the presence of sneaker males. *J Evol Biol*, 16: 896-902.
- Svensson, O. 2004. Sexual selection in *Pomatoschistus* - nests, sperm competition and parental care. Doctoral dissertation. Stockholm University.
- Svensson, O., Nyman, A. & Kvarnemo, C., 2004. Costly courtship or dishonest display? Intensely displaying sand goby males have lower lipid content. *J Fish Biol*, 64: 1425–1429.
- Svensson, O.; Kvarnemo, C. 2005. The importance of sperm competition risk and nest appearance for male behavior and female choice in the sand goby, *Pomatoschistus minutus*. *Behav Ecol*, 16: 1042-1048.
- Takahashi, D.; Kohda, M. 2004. Courtship in fast water currents a male stream goby (*Rhinogobius brunneus*) communicates the parental quality honestly. *Behav Ecol Sociobiol*, 55:431-438.
- Trainor, B.C.; Basolo, A. 2006. Location, location, location: stripe position effects on female sword preference. *Anim Behav*, 71: 135-140.
- Trivers, R. L. 1972. Parental investment and sexual selection. In: Sexual selection and the descent of man. Campbell, B. (Ed.). 1871–1971 (pp. 136–179). Chicago: Aldine.
- Warner, R. R., Lejeune, F. W. P.; van den Berghe, E. 1995. Dynamics of female choice for parental care in a fish species where care is facultative. *Behav Ecol*, 6, 73-81.
- Wong, B.B.M. 2004. Superior fighters make mediocre fathers in the Pacific blue-eye fish. *Anim Behav*, 67:583-590.

Capítulo III. O papel da comunicação acústica na selecção sexual no góbio de areia, *Pomatoschistus pictus*.

3.1.Introdução

A comunicação animal utiliza sinais que exploram diversas modalidades sensoriais, e.g. visuais, eléctricos, químicos ou acústicos, podendo mesmo recorrer a múltiplos sinais que se reforçam (comunicação multimodal) (Dugatkin, 2004), e envolver indivíduos da mesma ou de espécies diferentes (Forsman & Monkkonen, 2001; Goodale *et al.*, 2010). Entre as várias formas de comunicação, o som pode ser destacado pela sua flexibilidade, uma vez que muita informação pode ser transmitida em pouco tempo através de rápidas variações de frequência, estrutura harmónica, estrutura temporal e volume (Krebs & Davies, 1996; Slabbekoorn, 2004). Permite ainda a sinalização a longas distâncias e a sua direccionalidade pode ser modulada.

A comunicação acústica tem especial importância na escolha de parceiro sexual em diversos *taxa*, podendo os sinais sonoros serem emitidos por um ou ambos os sexos (Gonçalves-de-Freitas, 2009). Por exemplo, na altura da reprodução das rãs *Physalaemus pustulosus*, os machos agregam-se à noite para vocalizarem em coros. As fêmeas visitam estes coros e escolhem um parceiro com base nas características das vocalizações (Ryan, 1985). O mesmo acontece com muitas aves, onde foi proposto que o repertório de canto é usado como um sinal na escolha de parceiro e como indicação da qualidade genética do macho (Searcy, 1992).

Numerosos exemplos podem ser encontrados numa grande variedade de animais terrestres, e.g. aves, mamíferos, anfíbios e insectos (Gerhardt & Huber, 2002; Marler & Slabbekoorn, 2004; McGregor, 2006). Contudo, o meio aquático é um meio igualmente adequado para comunicação acústica e, para além dos mamíferos marinhos, existe informação crescente sobre espécies de outros grupos, sobretudo peixes, que utilizam este tipo de comunicação. Com efeito a variedade funcional e complexidade comunicativa nos sistemas aquáticos pode rivalizar com os bem estudados sistemas aéreos/terrestres (Myrberg, 1997; Bass & McKibben, 2003). Por exemplo, os sons produzidos pelos peixes podem desempenhar um importante papel durante a comunicação social necessária ao sucesso reprodutivo, tal como na expulsão de intrusos de um território de desova (Myrberg, 1997) e na atracção e escolha de parceiro sexual (Lugli *et al.*, 1996; Myrberg *et al.*, 1986).

Diversos estudos têm averiguado o papel de sons produzidos por machos de peixes na escolha de parceiro sexual e durante a corte. Por exemplo, Amorim *et al.* (2003) constataram que, na Tilápia *Oreochromis mossambicus*, a frequência dominante dos sons de corte está inversamente relacionada com a dimensão do macho, e que a taxa de

emissão de sons está directamente correlacionada com a frequência de comportamentos de corte que precedem tipicamente o acasalamento. Outros estudos sugerem que fêmeas de pomacentrídeos (*S. partitus*) preferem sons de corte de baixa frequência que indica igualmente um macho de maior tamanho (Myrberg *et al.*, 1986). Apesar de ainda não ter sido testado, estudos de Myrberg *et al.* (1991) e de Knapp & Kovach (1991) sugerem igualmente que as fêmeas de *S. partitus* podem também seleccionar machos com altas taxas de *chirping* de corte, que pode ser indicativo de uma melhor condição corporal do macho e capacidade parental superior. McKibben & Bass (1998) demonstraram que as fêmeas do batracoidídeo *P. notatus* preferem *hums* mais intensos (sinais de acasalamento de machos). Também os sons de corte emitidos por machos do góbio *P. pictus* são produzidos a taxas mais elevadas e em sequências mais longas por machos maiores e mais activos (Amorim & Neves 2007). Estes estudos sugerem que os sons de corte podem sinalizar a motivação do macho para acasalar e fornecer informação sobre a sua qualidade e portanto serem usados na selecção de parceiros.

Os sons de corte produzidos pelos machos podem ainda ser usados por machos conspecíficos num contexto de reprodução competitiva. Por exemplo, em algumas espécies de aves, experiências de *playback* (Matessi *et al.*, 2005) mostraram que a emissão de sons de corte por outros machos induziu um aumento no comportamento de corte do macho testado, o que sugere que os machos possam extrair informação dos sons emitidos por conspecíficos e usá-la em seu benefício. Diversos tipos de informação podem estar disponíveis para uma audiência e, portanto, a presença ou ausência de uma audiência constitui uma pressão selectiva na evolução da sinalização. Por exemplo, *eavesdropping* é definido como uma forma de obter informação através da monitorização de interacções entre outros indivíduos (McGregor & Dabelsteen, 1996). *Eavesdropping* pode permitir obter informação acerca da qualidade de potenciais parceiros ou oponentes (Doutrelant & McGregor, 2000; Naguib and Todt, 1997; Oliveira *et al.*, 1998; Otter *et al.*, 1999). Consequentemente, a sinalização do comportamento pode mudar na presença de uma audiência. Portanto, pelo menos algumas espécies de peixes podem extrair informação das vocalizações de corte de machos conspecíficos, uma vez que a podem usar num contexto de reprodução competitiva. É o que pretendemos estudar ao usar machos em experiências de *playback*.

Ambas as hipóteses da função dos sons de corte em peixes na escolha de parceiro pela fêmea e na reprodução competitiva entre machos necessitam de ser comprovadas experimentalmente. No entanto, a maioria dos estudos de *playback* em peixes apenas mediram respostas fonotáticas, que são por vezes um bom indicador de discriminação ou preferências, mas é precisa validação num contexto de escolha de parceiro ou de reprodução competitiva (Ryan, 1985; Holveck & Riebel, 2007). Isto deve-se,

provavelmente, às limitações técnicas relacionadas com as gravações debaixo de água e com as emissões dos *playbacks* (Ladich, 2004). Com efeito os altifalantes subaquáticos utilizados até à data não conseguem reproduzir fielmente os sons de baixa frequência emitidos por muitos peixes, o que terá certamente contribuído para a escassez de estudos nesta área (Amorim, 2006).

A família Gobiidae é considerada um caso de estudo para a compreensão da comunicação acústica em peixes (Bass & McKibben, 2003) porque inclui muitas espécies vocais (Lugli *et al.*, 1997; Myrberg & Lugli, 2006) e é um dos poucos *taxa* em que experiências de *playback* com peixes foram bem-sucedidas (Tavolga, 1958; Lugli, 1997; Lugli *et al.*, 1996, 2004). Experiências de *playback* dos sons produzidos por machos em época de reprodução mostraram que estes são efectivos na atracção da fêmea (Tavolga, 1958; Lugli *et al.*, 1996) e facilitam a corte (Lugli *et al.*, 2004).

Com o intuito de averiguar se os sons emitidos por machos durante a época reprodutiva influenciam a escolha de parceiro sexual por parte das fêmeas, bem como se os machos usam estas pistas sensoriais na competição com outros machos pela atracção de fêmeas, foram feitas experiências de *playback* em que foi avaliada a preferência de fêmeas e machos da espécie *Pomatoschistus pictus* por sons de corte versus um controlo (silêncio ou ruído branco), e por sons apresentados a uma taxa elevada ou baixa, bem como a preferência por sons longos ou curtos. Foram feitas experiências de *playback* utilizando dois dispositivos para emissão de sons subaquáticos desenvolvidos no laboratório (Fonseca & Maia Alves, 2011), que permitem a reprodução fiel dos sinais destes peixes.

3.2.Métodos

3.2.1.Delineamento do estudo e arranjo experimental

O arranjo experimental e o método de captura e manutenção dos peixes foi semelhante ao utilizado no Trabalho I. Foram utilizados os mesmos aquários experimentais, divididos em três compartimentos através de partições de plástico acrílico transparente, e com as zonas de resposta igualmente definidas. O peixe a estudar (fêmea ou macho) foi colocado no compartimento central juntamente com um ninho (concha de mexilhão), para promover a territorialidade no caso dos machos. Nos compartimentos laterais, foram também colocados machos territoriais com ninhos artificiais. A utilização de partições transparentes permitia a interacção visual entre os indivíduos (machos-fêmea: corte; macho-macho: agonística).

Todos os peixes foram previamente pesados e medidos. Cada peixe a testar era colocado no aquário experimental cerca de 24 horas antes do ensaio, de forma a permitir a aclimação do animal.

Aquando dos testes, trocavam-se as partições transparentes por partições opacas e removiam-se os peixes dos compartimentos laterais. Simultaneamente eram colocados os dispositivos subaquáticos para reprodução do som (Fishtalk; Fonseca & Alves, 2011) (fig.9) em cada um dos compartimentos laterais e à mesma distância da partição central. Dez minutos após a remoção dos peixes laterais dava-se início ao ensaio de *playback* que durava 15 minutos. Este era constituído por um período de 5 min de silêncio (Pré), seguido de um período 5 min de emissão de sons de corte (Pbk) e finalmente por um novo período de 5 min de silêncio (Pós). O objectivo era averiguar possíveis alterações no padrão de comportamento e de distribuição do peixe face aos diferentes estímulos acústicos.

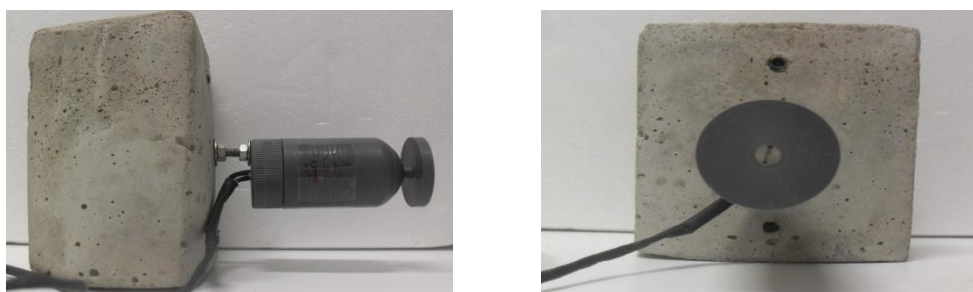


Fig. 9 – Vista lateral e frontal do dispositivo subaquático para reprodução do som (Fishtalk)

Cada peixe foi testado 4 vezes (no total foram testados 7 machos e 5 fêmeas) com diferentes estímulos acústicos (tratamentos: som vs. silêncio, som vs. ruído branco, som a taxa elevada vs. som a taxa baixa, e som de longa duração vs. som de curta duração). A atribuição do tipo de estímulo a cada lado do aquário foi aleatória. Nos tratamentos em que o som era apresentado em ambos os lados do aquário, as emissões dos sinais de um e outro lado eram alternadas afim de evitar possível mascaramento e/ou interferência entre os dois sinais e facilitar a detecção por parte do peixe sob teste.

3.2.2. Observações comportamentais

Todas as experiências foram acompanhadas de registos simultâneos em vídeo e áudio, com a câmara (Sony DCR-HC39) posicionada a cerca de 50 cm do aquário experimental. O sinal de vídeo foi digitalizado (TerraTec Electronic G1 USB) e gravado juntamente com um canal de áudio num PC através do programa MAGIX Movies on DVD. Todos os vídeos foram posteriormente analisados com um programa de análise comportamental - EthoLog 2.2.5 (Ottoni, 2000), tendo sido registadas as frequências e durações dos comportamentos abaixo referidos.

Para avaliar o efeito dos diferentes estímulos acústicos no comportamento exibido pelos peixes foi medido não só o tempo de permanência em cada uma das zonas de resposta laterais, como também quantificados os comportamentos de ocupação do ninho, natação na coluna de água, aproximação ao ninho, erecção de barbatanas, esfregar barriga na areia e construção do ninho.

3.2.3. Estímulos acústicos

Para cada experiência (taxa e duração) construiu-se seis estímulos acústicos diferentes, a partir de sons de corte de outros seis machos da mesma espécie. Dentro de cada estímulo o espaçamento dos sons foi feito de acordo com os intervalos medidos numa sequência natural de vocalizações. A amplitude dos diversos estímulos foi equalizada. Os estímulos com uma taxa de repetição baixa eram constituídos por dois *drum* por minuto, enquanto os de taxa elevada continham oito sons do mesmo tipo por minuto. Os estímulos para testar o papel da duração dos sons eram constituídos por oito sons curtos (cerca de 215 ms) por minuto (baixa duração) ou oito sons longos (cerca de 595 ms) por minuto (longa duração). Todos os estímulos apresentavam uma duração de 5 minutos e o

espaçamento entre sons foi igualmente determinado com base em sequências naturais. No caso das experiências som vs. silêncio, usamos como som um dos sons construídos para as experiências de taxa ou duração, emitindo de um lado um desses estímulos e mantendo o outro em silêncio. Em relação à experiência som vs. ruído branco fizemos o mesmo que fizemos em relação ao som, ou seja de um lado som e do outro ruído branco. O estímulo de ruído branco foi construído no programa Adobe Audition 2.0, tendo sempre em consideração o estímulo de som com o qual iríamos emitir, ou seja, fazendo com que as durações e taxas usadas para o som, fossem as mesmas para o ruído branco.

A cadeia áudio utilizada na reprodução dos sons consistiu num computador portátil ligado a um conversor D/A (M-Audio Fast Track Ultra 8R, 48 kHz, 16 bit). Este sinal era amplificado por um amplificador e reproduzido pelo “FishTalk”, ambos construídos no laboratório (Fonseca & Alves 2011). Para monitorizar os sons de estimulação foi utilizado um hidrofone (B&K 8104 condicionado pelo B&K Mediator 2238) colocado na partição central e equidistante de ambos os “FishTalk”. O sinal foi digitalizado e gravado através do subsistema A/D do mesmo equipamento M-Audio (48kHz, 16 bit) controlado pelo programa Adobe Audition 2.0 instalado num PC.

3.2.4. Análise estatística

Nesta experiência testou-se 12 peixes: 5 fêmeas e 7 machos. Todos os testes foram feitos utilizando o programa Statistica (v. 10). Uma vez que a maior parte dos indivíduos testados permaneceu menos do que 25% do tempo nas zonas de resposta não foi considerado o critério usado no capítulo 2 para seleccionar para análise estatística só os animais motivados e susceptíveis de produzir respostas com resultado biológico. Apesar dos inconvenientes da não aplicação do critério mencionado esta decisão permitiu, no entanto, o tratamento estatístico dos dados obtidos.

Para averiguar se existiram diferenças no tempo passado nas duas zonas de resposta nos períodos de pré-estímulo, *playback* e pós-estímulo, os resultados foram comparados recorrendo a análise de variância de medidas repetidas não paramétrica (teste de Friedman).

3.3.Resultados

Em média as fêmeas e os machos passaram mais tempo nas zonas de resposta nos períodos Pbk e/ou Pós nas experiências de som vs. controlo (silêncio ou ruído branco) em relação ao período Pré, tendo havido no entanto uma grande variabilidade entre o comportamento dos peixes-teste (tabela 6 e 7).

Tabela 6 - Tempo médio que fêmeas passaram nas 2 zonas de resposta face a diferentes tratamentos e nos diferentes momentos da experiência (pré, pbk, pós).

		$\bar{x} \pm DP$ (segundos)		
	Tratamentos	Pré	Pbk	Pós
Fêmeas	Som vs silêncio	33,10 ± 46,29	53,07 ± 49,10	35,92 ± 54,75
	Som vs ruído branco	32,59 ± 65,83	50,52 ± 73,52	48,81 ± 74,26
	Sons longos vs sons curtos	26,14 ± 29,20	29,87 ± 21,59	26,94 ± 27,75
	Sons a taxas altas vs sons a taxa baixa	26,63 ± 14,90	20,58 ± 24,46	19,70 ± 20,29

Tabela 7 - Tempo médio que machos passaram nas 2 zonas de resposta face a diferentes tratamentos e nos diferentes momentos da experiência (pré; pbk; pós)

		$\bar{x} \pm DP$ (segundos)		
	Tratamentos	Pré	Pbk	Pós
Machos	Som vs silêncio	46,29 ± 64,63	64,85 ± 93,91	43,96 ± 75,95
	Som vs ruído branco	38,00 ± 49,60	39,97 ± 50,48	55,38 ± 69,62
	Sons longos vs sons curtos	31,62 ± 54,23	43,62 ± 83,09	60,33 ± 83,37
	Sons a taxas altas vs sons a taxa baixa	27,60 ± 48,19	26,44 ± 33,69	19,42 ± 25,65

No entanto, não se observaram diferenças significativas na proporção de tempo passada na zona de interesse (definida como a zona do som nas experiências de som vs. silêncio ou som vs. ruído branco, e na zona do som apresentado a taxa alta ou sons longos nas

restantes duas experiências) para os períodos Pré, Pbk e Pós, tanto para os machos como para as fêmeas (teste de Friedman, $p > 0,05$, Tabela 8)

Tabela 8-Resultados teste de Friedman relativos aos *playbacks* com machos e fêmeas. GL- graus de liberdade; χ^2 - qui-quadrado.

Género	Tratamento	N	GL	χ^2	p
Machos	Som vs silêncio	7	2	3,11	0,21
	Som vs ruído branco	7	2	2,27	0,32
	Sons longos vs sons curtos	7	2	0,62	0,74
	Sons a taxa alta vs sons a taxa baixa	7	2	1,60	0,45
Fêmeas	Som vs silêncio	5	2	0,29	0,87
	Som vs ruído branco	5	2	0,78	0,68
	Sons longos vs sons curtos	5	2	2,36	0,31
	Sons a taxa alta vs sons a taxa baixa	5	2	3,26	0,20

3.4. Discussão

Muitos peixes produzem sons em contextos reprodutivos (Ladich, 2004), e experiências de *playback* em algumas espécies demonstraram uma função atractiva dessas vocalizações (Gerald, 1971; Myrberg & Spires, 1972; Lugli *et al.*, 1996; McKibben & Bass, 1998). Com este trabalho, pretendia-se saber qual a função dos sons de corte emitidos por machos de *Pomatoschistus pictus*, bem como se as fêmeas e os machos desta espécie demonstravam preferências por estes sons emitidos a taxas e durações diferentes.

Em ambos os casos (machos e fêmeas) os resultados dos diferentes tratamentos foram não significativos, *i.e.*, não foram encontradas diferenças significativas no tempo que os peixes passaram nas zonas de resposta nos diferentes momentos da experiência. Seria de esperar que, se mostrassem interesse pelos sons, o tempo de permanência nas zonas de resposta durante os períodos de *playback* e, provavelmente, nos períodos de pós *playback* fosse maior. Uma possível justificação para isso pode ser a falta de motivação suportada pelo facto de a maior parte dos indivíduos testados ter passado menos de 25% do tempo nas zonas de resposta, ou seja, os peixes poderiam já não ter qualquer tipo de motivação para acasalar, e portanto, não reagiram à emissão de sons de corte. De acordo com Pitcher (1986) um peixe pode responder de forma diferente ao mesmo estímulo em diferentes ocasiões devido a mudanças motivacionais ou estruturais que afectam a sua capacidade para agir. Efectivamente, os peixes começaram a ser testados no início do mês de Maio, ou seja, no final da época reprodutiva desta espécie. Muito provavelmente a motivação para acasalar nesta altura já não seria a mesma do início da época reprodutiva o que, seguramente, afectou os resultados. Por outro lado, a falta de estímulos de outras modalidades, como por exemplo um estímulo visual, podem também ter afectado a forma como os peixes se comportaram face aos sons emitidos. Estudos realizados com espécies da mesma família, o *Bathygobius soporator* mostraram que as fêmeas necessitam de um estímulo visual para responderem a um chamamento de corte; não respondendo ao som do *playback* por si só (Kaatz, 2011). Experiências feitas por Tavolga (1958) usando a mesma espécie, *B. soporator*, mostraram que tanto os machos como as fêmeas aumentaram a actividade em resposta às vocalizações de corte de machos. Nestes testes, a adição de um estímulo visual foi necessária para evocar respostas das fêmeas. Estes dois exemplos mostram que um estímulo visual é muito importante para obter respostas claras em góbios.

Outro factor que poderá também ter tido alguma influência nos resultados obtidos foi a temperatura. No início destes testes (Maio), começou a verificar-se uma subida da

temperatura do meio e, por consequência, também da água dos aquários *stock* que, mesmo com os refrigeradores ligados, não mantinha a temperatura nos níveis normais. Este factor pode também ter influenciado o comportamento dos peixes. Denoël *et al.* (2005) sugeriu que a temperatura tem efeitos nos padrões comportamentais de todos os organismos, especialmente nos ectotérmicos, que dependem totalmente da temperatura do meio.

Concluindo, com este estudo não conseguimos apurar se fêmeas e machos têm preferências por diferentes durações de sons ou por sons emitidos a diferentes taxas. Mais estudos devem ser feitos nesse sentido, de preferência no pico da época reprodutiva, para que o nível de motivação para acasalar seja elevado, de forma a produzir respostas evidentes nos peixes. Adicionalmente, esses testes devem ser feitos em conjunto com a presença de estímulos visuais para promover respostas mais visíveis, e os factores abióticos, como por exemplo a temperatura, devem ser rigorosamente controlados a fim de não influenciar o comportamento dos animais.

3.5. Bibliografia

Amorim, M.C.P.; Knight, M.E.; Stratoudakis, Y.; Turner, G.F. 2004. Differences in sounds made by courting males of three closely related Lake Malawi cichlid species. *J. Fish Biol*, 65:1358-1371

Amorim, M.C.P. 2006. Diversity of sound production in fish. In: Communication in fishes. Ladich F., Collin S.P., Moller P., Kapoor B.G. (eds), vol.1. *Science publishers, Enfield U.S.A.*

Amorim, M.C.P.; Neves, A.S.M. 2008. Male painted gobies (*Pomatoschistus pictus*) vocalise to defend territories. *Behaviour*, 145: 1065-1083

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; Almada, V. C. 2005. The outcome of male-male encounters affects subsequent sound production during courtship in the Cichlid Fish *Oreochromis mossambicus*. *Anim Behav*, 69: 595-601.

Bass, A.H.; McKibben, J. R. 2003. Neural mechanisms and behaviors for acoustic communication in teleost fish. *Prog Neurobiol*, 69, 1-26.

Bosch, J.; Rand, A. S.; Ryan, M. J. 2000. Signal variation and call preferences for the whine frequency in the túngara frog, *Physalaemus pustulosus*. *Behav Ecol Sociobiol*, 49, 62-66.

Bosch, J.; Márquez, R.; Boyero, L. 2003. Behavioural patterns, preference, and motivation of female midwife toads during phonotaxis tests. *J Ethol*, 21, 61-66.

Bouchereau, J.;L., Houder, V.; Marques, A.; Rebelo, J.E., 2003. A new distribution record and the reproductive strategy of *Pomatoschistus pictus adriaticus* (Pisces: Gobiidae) in the Mediterranean Sea. *J Mar Biol Assoc UK*, 83, 1157–1161.

Bush, S. L.; Gerhardt, H. C.; Schul, J. 2002. Pattern recognition and call preferences in treefrogs (Anura: Hylidae): a quantitative analysis using a no-choice paradigm. *Anim Behav*, 63, 7-14.

Denöel, M.; Mathieu, M.; Poncin, P. 2005. Effect of water temperature on the courtship behavior of the Alpine newt *Triturus alpestris*. *Behav Ecol Sociobiol*, 58:121-127.

Dugatkin, L.A. 2004. *Principles of Animal Behavior*. W.W.Norton Publishing. 1st edition. 600 p.

Fonseca, P.J; Maia Alves, J. 2011a. Underwater Sound Generator. Patent Application PT105,474.

Forsman, J.; Mönkkönen, M. 2001. Responses by breeding birds to heterospecific song and mobbing call playback under varying predation risk. *Anim Behav*, 62: 1067-1073.

- Gerald, J.W. 1971. Sound production during courtship in six species of sunfish (Centrarchidae). *Evolution* 25: 75–87.
- Gerhardt, H. C.; Huber, F. 2002. Acoustic Communication in Insects and Anurans. Common Problems and Diverse Solutions. *University of Chicago Press*. Chicago.
- Gonçalves-de-Freitas, E.; Castro, A.L.S.; Carvalho, T.B.; Zocoler de Mendonça, F. 2009. Sexual selection and social hierarchy in fishes. *Oecol.Bras.*, 13: 80-88.
- Goodale, E.; Beauchamp, G.; Magrath, R.D.; Nieh, J.C.; Ruxton, G.D. 2010. Interspecific information transfer influences animal community structure. *Trends Ecol Evol*, 35: 354 - 361.
- Doutrelant, C.; McGregor, P. K. 2000 Eavesdropping and mate choice in female fighting fish. *Behaviour*, 137: 1655 - 1669.
- Knapp, R. A.; Kovach, J. T. 1991. Courtship as an honest indicator of male parental quality in the bicolor damselfish, *Stegastes partitus*. *Behav Ecol*, 2: 295-300.
- Kaatz, I.M. 2011. How fishes use sounds: quiet to loud and simple to complex, p.684-691. In: Farrell, A.P (Ed.) *Encyclopedia of Fish Physiology: From Genome to Environment*. Elsevier. London.
- Krebs, J.R.; Davies, N.B. 1996. Introdução à Ecologia Comportamental. *Atheneu*. São Paulo. 420 p.
- Ladich, F. 2004. Sound production and acoustic communication. In: *The Senses of Fish Adaptations for the Reception of Natural Stimuli*. G. von der Erude, J. Mogdans and B.G. Kapoor (eds). *Kluwer, Dordrecht and Narosa*. New Delhi, pp. 210–230.
- Lugli, M., Pavan, G., Torricelli, P. 1996. The importance of breeding vocalizations for mate attraction in a freshwater goby with a composite sound repertoire. *Ethol Ecol Evol*, 8: 343 – 351.
- Lugli, M.; Pavan, G.; Torricelli, P. 1996. The importance of breeding vocalizations for mate attraction in a freshwater goby with a composite sound repertoire. *Ethol Ecol Evol*, 8: 343-351
- Lugli, M. P.; Torricelli, G.; Pavan, G.; Mainardi, D. 1997. Sound production during courtship and spawning among freshwater gobiids (Pisces, Gobiidae). *Mar Fresh Behav Physiol*, 29: 109 – 126.
- Lugli, M.; Pavan, G.; Torricelli, P. 2004. The response of male freshwater goby to natural and synthetic male courtship sound playback following exposure to different female sexual stimuli. *Ethol Ecol Evol*, 16: 55–70
- Matessi, G.; McGregor, P.K.; Peake, T.M.; Dabelsteen, T. 2005. Do male birds intercept and use rival courtship calls to adjust paternity protection behaviours? *Behaviour*, 142: 507-524.
- McGregor, P. K. 2006. *Animal Communication Networks*. Cambridge University Press. Cambridge.
- McGregor, P.K., Dabelsteen, T. 1996. Communication networks. In: *Ecology and evolution of acoustic communication in birds*. Kroodsma, D.E.; Miller, E. H. (eds). *Cornell University Press*: 409–425. Ithaca, New York.

- McKibben, J.R., Bass, A.H. 1998. Behavioral assessment of acoustic parameters relevant to signal recognition and preference in a vocal fish. *J. Acoust. Soc. Am.* 104, 3520–3533.
- Myrberg, Jr.A.A.; Spires, J.Y. 1972. Sound discrimination by the bicolor damselfish, *Eupomacentrus partitus*. *J. Exp. Biol.* 57: 727–735.
- Myrberg, A.A.; Mohler, M.; Catala, J.D. 1986. Sound production by males of a coral reef fish (*Pomacentrus partitus*): its significant to females. *Anim Behav*, 34: 913-923
- Myrberg, A. A. 1997. Underwater sound: Its relevance to behavioral functions among fishes and marine mammals. *Mar Fresh Behav Physiol*, 29, 3-21.
- Myrberg, A.A.; Lugli, M. 2006. Reproductive behaviour and acoustical interactions. *In: Communication in fishes. Ladich F., Collin S.P., Moller P., Kapoor B.G. (eds), vol 1. Science publishers, Enfield U.S.A.*
- Naguib, M.; Todt, D. 1997. Effects of dyadic interactions on other conspecific receivers in nightingales. *Anim Behav*, 54:1535–1543.
- Oliveira R.F.; McGregor, P.K.; Latruffe, C. 1998. Know thine enemy: fighting fish gather information from observing conspecific interactions. *Proc R Soc Lond*, 265:1045–1049.
- Otter, K.; McGregor, P.K.; Terry, A.M.R.; Burford, F.R.L.; Peake, T.M.; Dabelsteen, T. 1999. Do female great tits (*Parus major*) assess males by eavesdropping? A field study using interactive song playback. *Proc R Soc Lond*, 266:1305–1310.
- Otoni, E. B. 2000 EthoLog 2.2: A tool for the transcription and timing of behavior observation sessions. *Behav Res Instrum Method Comput*, 28: 472-473.
- Pitcher, T.J. 1986. The motivational basis of fish behaviour, p.31-55. In: Behaviour of Teleost Fishes. Pitcher, T.J. (Ed.). *Croom Helm*, 554p. London.
- Ryan, M. J. 1985. The Tungara Frog: a Study in Sexual Selection and Communication. *University of Chicago Press*, Chicago.
- Searcy, W. A. 1992. Song repertoire size and female preferences in song sparrows. *Am Zool*, 32: 71–80.
- Slabbekoorn, H. 2004. Singing birds: from communication to speciation. In Encyclopedia of Animal Behavior. Bekoff, M. (ed.). Volume 1, pp. 399-411. *Greenwood Press*, Westport, Connecticut, USA.
- Schul, J.; Bush, S. L. 2002. Non-parallel coevolution of sender and receiver in the acoustic communication system of treefrogs. *Proc R Soc Lond*, 269: 1847-1852.
- Tavolga, W.N. 1956. Visual, chemical and sound stimuli as cues in the sex discriminatory behaviour of the gobiid fish *Bathygobius soporator*. *Zoologica*, 41: 49–54.
- 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.
- Marler, P.; Slabbekoorn, H. 2004. Nature's Music. The Science of Birdsong. *Elsevier/Academic Press*, San Diego

Tavolga, W.N., 1958b. The significance of underwater sounds produced by males of the gobiid fish, *Bathygobius soporator*. *Physiol Zool*, 31: 259–271.

Verzijden, M.N.; van Heusden J.; Bouton, N.; Witte, F.; ten Cate, C.; Slabbekoorn, H. 2010. Sounds of male Lake Victoria cichlids vary within and between species and affect female mate preferences. *Behav Ecol*, 21: 548–555.

Wagner, W. E.Jr. 1998. Measuring female mating preferences. *Anim Behav*, 55: 1029-1042.

Winn, H. E. 1964. The biological significance of fish sounds. In: Marine bio-acoustics. Tavolga, W. N.(ed). vol. 2,pp. 213–231. *Pergamon Press NY*, New York.

Capítulo IV. Considerações finais

4.1. Considerações finais

Tendo em conta que as fêmeas investem mais na reprodução do que os machos, estas devem ser selectivas a fim de obterem um parceiro sexual que maximize o seu *fitness*. No primeiro capítulo não observamos preferência pela dimensão corporal dos machos por parte das fêmeas de *P. pictus*. Isto sugere, que as fêmeas usam outras pistas sensoriais para a escolha de parceiros, ou então que escolhem os machos usando o tamanho corporal associado a outros traços. Os nossos resultados indicaram que as fêmeas escolhem os machos baseando-se na intensidade de corte dos machos, independentemente do seu tamanho. Sugerem ainda, que a comunicação acústica tem um papel importante nesta escolha, visto que o tempo de permanência junto de machos produtores de sons foi bastante superior em relação aos que não produziram sons, independentemente do tamanho. Mais estudos devem ser feitos no sentido de se apurar quais são exactamente os factores de escolha de parceiro sexual por parte das fêmeas, e de que forma esses factores interactivam. Estudos futuros deverão ter em conta aspectos que não foram considerados no nosso estudo e que podem ter alguma influência, como por exemplo a comunicação química. Feromonas libertadas na água podem dar indicações às fêmeas do estado reprodutivo (Liley, 2011) ou da condição do macho, e esses factores podem também ser considerados aquando da escolha.

Com este trabalho (capítulo 3) não foi possível concluir se os sons que os machos emitem durante a corte influenciam a escolha das fêmeas e se os machos usam estes sons para seu benefício na competição reprodutiva, bem como se existem preferências por sons emitidos a taxas e durações diferentes. A falta de interesse por estes sinais acústicos de corte deveu-se provavelmente à falta de motivação dos peixes testados, que se encontravam no fim da época de reprodução, bem como à ausência de um estímulo visual apresentado em simultâneo. A ausência de estímulos de outras modalidades apresentados com sinais acústicos tem sido apontada como uma causa frequente dos insucessos de experiências de playback realizadas com peixes (Ladich, 2004). De facto, *P. pictus* é uma espécie muito vocal mas os sinais acústicos produzidos pelos machos são realizados quando há contacto visual entre os parceiros e geralmente acompanhados com exhibições visuais (Amorim & Neves, 2007). Uma razão da falta de trabalhos publicados com peixes que utilizem experiências de *playback* é o facto de os altifalantes subaquáticos comerciais não serem capazes de reproduzir os sons pulsados e de baixa frequência dos peixes. Tal não se passou no presente trabalho uma vez que o FishTalk reproduz fielmente os sons de peixes incluindo os de *P. pictus*. Trabalhos futuros devem

ser feitos, de preferência no início da época reprodutiva, onde ambos machos e fêmeas estarão muito motivados, e usando também estímulos visuais, para que se consigam obter respostas claras por parte dos objectos de estudo.

4.2. Bibliografia

Amorim, M.C.P.; Neves, A.S.M. 2007. Acoustic signalling during courtship in the painted goby, *Pomatoschistus pictus*. *J Mar Biol Ass UK*, 87: 1017-1023.

Ladich, F. 2004. Sound production and acoustic communication. In: *The Senses of Fish Adaptations for the Reception of Natural Stimuli*. von der Erude, G.; Mogdans, J.; Kapoor, B.G. (eds). Kluwer, Dordrecht and Narosa, New Delhi, pp. 210–230

Liley, N. R. 2011. Chemical Communication in Fish. *Can J Fish Aquat Sci*, 39: 22-35.