

## **L'accelerazione ormonale dello sviluppo della canzone illumina il meccanismo di controllo motorio nei canarini**

- **Estratto**

Negli uccelli canori, l'ontogenesi del comportamento canoro mostra forti paralleli con l'apprendimento del linguaggio umano. Come negli esseri umani, lo sviluppo del comportamento vocale appreso richiede l'esposizione a un modello acustico di vocalizzazioni tipiche della specie e, successivamente, un periodo di pratica sensomotoria dopo il quale la vocalizzazione viene prodotta in modo stereotipato. Ciò richiede la padronanza delle istruzioni motorie che guidano l'organo vocale e il sistema respiratorio. Recentemente, è stato dimostrato che nel caso dei canarini (*Serinus canaria*), le diverse sillabe che costituiscono la canzone sono generate da modelli di pressione di sacche d'aria con forme caratteristiche, in particolare quelle appartenenti a una famiglia matematica molto specifica. Qui abbiamo trattato i canarini giovanili con testosterone all'inizio del periodo di allenamento dei sensori. Questa esposizione ormonale ha accelerato lo sviluppo del canto in una canzone stereotipata simile ad un adulto. Dopo 20 giorni di trattamento con testosterone, i modelli di pressione subaringea della sacca d'aria assomigliavano a quelli prodotti dagli adulti, mentre quelli di uccelli di controllo non trattati della stessa età non lo facevano. La struttura temporale dettagliata e gli schemi di modulazione sono emersi rapidamente con il trattamento con testosterone e sono state osservate tutte le categorie di canto adulto precedentemente identificate. Questa ricerca mostra che l'effetto noto del testosterone sui circuiti neurali dà origine a categorie stereotipate di gesti motori respiratori. La pratica estensiva di questi schemi motori durante la fase sensomotoria non è richiesta per la loro espressione.

- **INTRODUZIONE**

Negli Oscini, uccelli canori, la canzone si sviluppa in una sequenza ben definita di stadi ontogenetici. Il primo periodo di apprendimento delle canzoni può essere caratterizzato dall'acquisizione di informazioni sulla canzone conspecifica (periodo sensoriale) mentre il giovane ascolta la canzone e forma una memoria delle caratteristiche della canzone (modello di canzone) (Brainard e Doupe, 2002, Adret, 2008). Il secondo stadio nello sviluppo della canzone è un periodo senso-motorio, in cui l'uccello giovanile produce vocalizzazioni che vengono regolate nel tempo (canzone di plastica) fino a quando non assomigliano ai tratti delle canzoni del modello (Hultsch e Todt, 2004). Questo stadio è pensato per essere importante per praticare le abilità motorie del canto. Lo stadio finale dello sviluppo della canzone (cristallizzazione) è una rapida riduzione della variabilità acustica con conseguente brano altamente stereotipato.

Vi è una considerevole variabilità nei tempi di ontogenesi della canzone tra le specie. Mentre i fringuelli zebrati (*Taeniopygia guttata*) sviluppano canzoni per adulti entro 90-100 giorni dopo la schiusa (PHD), questo processo richiede 8-12 mesi in canarini (*Serinus canaria*) e molte altre specie con cicli di riproduzione annuali (ad esempio, Brainard e Doupe, 2002) ; Tramontin e Brenowitz, 2000). Nei canarini, lo stadio sensoriale dura approssimativamente a PHD 60 mentre il periodo sensomotorio dura per altri 6 mesi. All'inizio della prima stagione riproduttiva, la canzone si cristallizza in una canzone adulta stereotipata. Tipico canto canarino adulto consiste in una sequenza di sillabe ripetute (frasi) che differiscono per la durata e la modulazione di frequenza (Lehongre et al., 2008 e Fig. 1 (A)).

Gli ormoni sessuali si sono dimostrati importanti per il processo di apprendimento delle canzoni e per la produzione di canzoni a causa della loro capacità di rimodellare circuiti neurali e sistemi periferici (Zeigler e Marler, 2008, parte V). Ad esempio, è stato dimostrato che gli steroidi sessuali sono in grado di causare un aumento delle dimensioni di molte aree del cervello del circuito del canto paragonabili all'aumento stagionale (Tramontin et al., 2003). In particolare, il testosterone circolante gioca un ruolo importante nello sviluppo delle canzoni (Ball et al., 2003; Harding, 2004). Recettori ormonali sono stati trovati nelle aree principali del circuito musicale. Recettori androgeni sono stati trovati in tutte le aree del cervello del circuito motorio e del percorso anteriore del proencefalo (ad esempio Brenowitz, 2008, Perlman et al., 2003), mentre l'insorgenza di recettori estrogenici è specifica per specie e nel circuito motorio erano solo trovati in HVC (Schlinger e Brenowitz, 2002, Gahr et al., 1987, Gahr, 1990 e Gahr et al., 1993). Inoltre, i recettori degli androgeni sono stati trovati anche in aree del mesencefalo e del cervello coinvolto nel controllo del premotore dei sistemi respiratorio e siringo (Gahr and Wild, 1997) e le proteine leganti gli androgeni sono presenti nel tessuto siringale (Lieberburg e Nottebohm, 1979). È chiaro da tutto questo lavoro che il ruolo degli steroidi è di fondamentale importanza per il circuito musicale per capire il modo in cui cambiano il comportamento modificando i circuiti neurali, ma i dettagli di questi processi devono ancora essere capiti.

Gli uccelli canori castrati (paludi e passerotti) attraversano le fasi di apprendimento nonostante i bassi livelli di testosterone circolante ma senza cristallizzazione del loro canto (Marler et al., 1998). Gli impianti di testosterone portano alla cristallizzazione della canzone, suggerendo che gli steroidi sessuali svolgono un ruolo più critico nella produzione motoria rispetto al processo di apprendimento. Durante le fasi plastiche dello sviluppo della canzone i livelli di testosterone sono bassi, mentre un aumento coincide con la cristallizzazione della canzone (ad esempio Brenowitz 2008). Nei canarini, i livelli stagionali di testosterone fluttuante sono associati all'alternanza tra la canzone cristallizzata durante la stagione riproduttiva e una fase più plastica durante il resto dell'anno durante il quale nuove sillabe possono essere aggiunte al repertorio di un maschio. Inoltre, il canto stereotipato simile ad un adulto può essere rapidamente indotto in uccelli canori giovanili mediante somministrazione di testosterone (per esempio, Whaling et al., 1995; Heid et al., 1985; Gardner et al., 2005). Questa rapida induzione di una canzone stereotipata abbrevia la fase senso-motoria dell'ontogenesi della canzone, influenzando così i processi dettagliati della plasticità nel controllo motorio della canzone (Nordeen e Nordeen, 2004). Considerando che l'interazione tra una fase di pratica abbreviata e gli effetti biofisici del testosterone sui circuiti neurali si pensa che porti a deficit apparenti nella canzone cristallizzata nel fringuello zebrato (Korsia e Bottjer, 1991), i gesti motori sottostanti di accelerata, indotta dal testosterone la stereotipia della canzone non è stata investigata in nessuna specie di uccello canoro.

La generazione del canto degli uccelli adulti richiede un'attività coordinata dei sistemi motori respiratorio, siringale e del tratto vocale superiore (Suthers e Zollinger, 2004). Per la produzione di canzoni, gli uccelli oscine generano impulsi di pressione dell'aria, che consentono il trasferimento di energia alle labbra (Soundlin e Laje, 2005). La regolazione attiva della frequenza e dell'apertura labiale richiede un preciso controllo motorio dei muscoli siringali, che deve essere coordinato con le istruzioni motorie ai muscoli respiratori generando i modelli di pressione (Goller and Suthers, 1996). Canary Canary è notevole per la sua lunga durata e le alte frequenze di ripetizione delle sillabe. Nonostante alte percentuali di ripetizione delle

sillabe, i canarini reintegrano l'aria espulsa per la produzione di una sillaba durante brevi mini-respiri che corrispondono agli intervalli inter-sillababili silenti (Hartley and Suthers, 1990). Questa alternanza tra espirazione e inspirazione può dar luogo a frasi con frequenze di ripetizione della sillaba di circa 30.s-1. Le frasi con frequenze di ripetizione della sillaba superiori sono generate dalla modulazione di un impulso di pressione espiratorio sostenuto (frase pulsatile).

Ogni tipo di sillaba è generato da un modello di pressione dell'airbag distinto e stereotipato. Modelli diversi variano nel grado di modulazione della pressione espiratoria, che va da semplici impulsi non modulati (frasi di mini-respiro più rapide) a impulsi ripetutamente modulati (frasi pulsatile). Questi pattern respiratori di canary song sono stati studiati in dettaglio per quanto riguarda un supposto substrato neurale che può dare origine alla diversità dei gesti motori presenti nei diversi tipi di frasi (Trevisan et al., 2006). Questo lavoro ha dimostrato che la diversità dei modelli di pressione delle frasi di canto non costituisce un insieme imprevedibile di gesti motori che potrebbero derivare da un insieme altrettanto imprevedibile di istruzioni del motore. Tutti i modelli di pressione osservati della canzone canarino adulta corrispondevano alle diverse soluzioni sub-armoniche di un semplice sistema guidato non lineare (Alonso et al., 2009, vedi METODI), suggerendo una solida struttura matematica sottostante. Questa interpretazione della diversità dei gesti respiratori come soluzioni sub-armoniche di un semplice sistema non lineare spiega simultaneamente le caratteristiche morfologiche degli schemi di pressione e il tempo sillabico delle frasi.

Qui vogliamo testare l'ipotesi che i giovani trattati con testosterone presentino anche le delicate morfologie previste dal modello matematico. La logica dietro questa ipotesi è che elevati livelli di testosterone circolante potrebbero portare a una maturazione dei circuiti neurali per la produzione di canzoni. In questo modo, i gesti motori respiratori che si adattano al modello dovrebbero emergere prematuramente. Al contrario, non prevediamo che i giovani non trattati possano produrre l'intero spettro dei modelli di pressione.

## RISULTATI

### Modelli respiratori nei giovani trattati con testosterone

Dopo 20 giorni di trattamento con testosterone, i modelli di pressione del canto d'aria nei canarini giovanili assomigliavano a quelli degli adulti, compresi tutti i tipi di "base". A questo punto, i gesti respiratori erano organizzati in frasi, che sono formate dalla ripetizione di uno schema respiratorio stereotipato e assomigliano ai gesti respiratori prodotti dai canarini adulti [Figs. 1 e 4] .4]. Modelli di pressione di sacche d'aria di diversi tipi di sillabe sono stati registrati in quattro giovani trattati con testosterone mentre il quinto uccello non ha cantato dopo l'impianto della cannula a pressione. Gli impulsi sono stati confrontati con quelli prodotti dai canarini adulti (tipi di basi) e la somiglianza calcolata [Fig. 6, Tabella 1]. I pattern che possono essere descritti come un'oscillazione armonica (pattern simili a P1; Fig. 6 (A)) sono presenti nelle canzoni di tutti e quattro i giovani, mentre l'impulso respiratorio che consiste in un primo picco seguito da

un lento decadimento (P0 -come modelli, Fig. 6 (B)) è stato prodotto da tre individui. Anche se il primo picco è minore per i minori 9 e 11, e per il giovane 04 è a malapena suggerito, i criteri che abbiamo usato per il riconoscimento sono stati ancora raggiunti. Inoltre, l'ampiezza di questo primo picco era abbastanza variabile nelle sillabe all'interno e tra individui adulti (vedi Fig. 1, pannelli (A), (C) e (F)). Un modello pulsatile (pattern simili a P1b) è stato generato da tre dei quattro individui [Fig. 6 (C)], mentre il quarto modello (modelli simili a P2, Fig. 6 (D)) della base è stato prodotto da tutti gli individui. È quindi chiaro che dopo 20 giorni di trattamento con testosterone tutte le categorie di pressione respiratoria sono state generate da almeno tre individui su quattro.