



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE – FURG
INSTITUTO DE OCEANOGRAFIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM OCEANOGRAFIA
BIOLÓGICA

**“VARIAÇÃO INTRAPOPULACIONAL DO REPERTÓRIO
DE ASSOBIOS DO BOTO-DE-LAHILLE, *Tursiops truncatus*
gephyreus (CETARTIODACTYLA, DELPHINIDAE), NO
EXTREMO SUL DO BRASIL”**

RIHEL VENUTO DOS SANTOS

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-graduação em Oceanografia Biológica da
Universidade Federal do Rio Grande – FURG,
como requisito parcial à obtenção do título de MESTRE

Orientador: Prof. Dr. Luciano Dalla Rosa

Co-orientadores: Prof. Dr. Alexandre Azevedo/ Dr. Pedro Fruet

RIO GRANDE

Dezembro de 2018

“Emancipate yourselves from mental slavery

None but ourselves can free our minds”

Robert Nesta Marley

Agradecimentos

Gostaria de agradecer inicialmente ao universo e suas sinfonias infinitas. Sou grato por poder escutá-las em meus ouvidos e em meu peito. Que esta melodia possa tocar o coração de cada ser humano. Também aos botos por não ficarem tímidos em nossa presença, seguindo seu diálogo como se nada estivesse acontecendo. Proporcionando momentos sempre muito mágicos e inesquecíveis.

Aos meus amados pais, Deva e Sagar, companheiros de caminhada que me materializaram no mundo e sempre me deram todo o amor que existe no universo para que eu conseguisse crescer com um coração forte e uma mente tranquila, e conseguisse encarar com força meus desafios nessa sociedade doente que muito precisa de união e amor ao próximo para que haja a cura e mudanças. Muito obrigado, palavras com certeza não descrevem o que tenho aqui dentro. Amo vocês sempre.

Ao Pedro Fruet agradeço de coração pela amizade, carinho, companheirismo e, principalmente, por sempre acreditar em mim. Obrigado por ter me oportunizado desenvolver este trabalho e por ter confiado na minha capacidade. Por sempre ter me tirado da zona de conforto, me proporcionado crescer e amadurecer como pessoa e profissional. Foram muitas horas de barco, de sol, de surf, de conversas, de música, de mate, de risadas e de construção, para que esse trabalho fosse realizado. Obrigado por sempre ter sido sincero e sempre ter feito tudo que estava ao seu alcance para me ajudar. Com certeza você foi uma das peças principais para que este trabalho se tornasse realidade.

Ao meu orientador Luciano Dalla Rosa muito obrigado pelo companheirismo, amizade e toda dedicação para que fosse possível realizar este trabalho. Fico muito feliz por teres feito parte desse processo e por tudo o que me ensinaste, obrigado. Foram muitos momentos de troca para chegarmos ao final deste processo. Obrigado pela paciência, orientação e puxões de orelha necessários para o aprendizado. Obrigado também pelas conversas sinceras e por fim, mas não menos importante, por acreditar em mim.

Ao Alexandre Azevedo por toda atenção, orientação e disponibilidade em esclarecer minhas dúvidas, que não eram poucas. Por ter me recebido sempre de braços abertos no MAQUA, local onde pude aprender e crescer. Você foi crucial para estruturação deste trabalho e para minha formação como profissional.

Ao Lauro Barcelos e sua imensa dedicação para que o Museu Oceanográfico funcione de forma adequada, nunca medindo esforços para ajudar o Projeto dos Botos. Sem você esse trabalho não seria possível, muito obrigado. Obrigado também a todos que contribuem e contribuíram de alguma forma para que o Museu e o Projeto dos Botos sejam o que são.

À KAOSA e à dedicação de todos seus integrantes que ao longo dos últimos anos mantiveram o projeto andando com muito suor e foco. Obrigado por terem contribuído para minha formação profissional de diversas formas nestes últimos anos.

À Juliana Di Tullio pela amizade, companheirismo, risadas, bolos, conversas sinceras e disposição para sempre me ajudar quando precisei, nunca medindo esforços. Você foi sempre um exemplo para mim desde quando embarquei no Talude em 2009. Muito obrigado por tudo Ju, você foi essencial para minha formação.

À Camila Carvalho pela amizade, conversas, risadas, companheirismo e disposição em sempre me ajudar, a qualquer instante, dentro e fora do trabalho. Muito obrigado sempre por compartilhar tudo que sabia sobre modelagem e toda ajuda com o *software* R, sem você seria muito mais difícil, tenho certeza.

À Luciana Medeiros por tudo, todas risadas, amor, conversas, meditações. Com certeza você foi fundamental para minha formação como pessoa e como profissional. Força que vamos conseguir construir um mundo menos egoísta e com mais compaixão.

Ao Rodrigo Genoves pela amizade, companheirismo e toda dedicação intensa ao Projeto dos Botos. Obrigado por ter estudado as relações sociais dos botos antes de mim, foi o seu trabalho que permitiu que este se concretizasse desta forma. Obrigado também pela dedicação e auxílio na triagem das fotos, mesmo em momentos corridos. Você foi crucial.

À Andrea Milanelli, por toda ajuda sempre, amizade, risadas. Obrigado também por escolher essa área e podermos trocar e construir esse conhecimento sobre bioacústica tão pouco estudado aqui na região. Como diria o Robert Marley: “*..There's work to be done, So let's do it-a little by little..*”. Vamo arriba.

À Raphaela e ao Ricardo obrigado pela amizade e ajuda sempre que necessário, contribuindo para o desenvolvimento do Projeto dos Botos e do meu trabalho. Ricardo, muito obrigado pela ajuda nas análises dos assobios.

À Liane Dias por toda amizade, carinho, conversas sinceras, pãezinhos integrais cheios de amor, companheirismo e dedicação, nunca medindo esforços para me ajudar sempre.

À Silvina Botta, ahh grande Sil. Sempre presente, mesmo não estando diretamente relacionada ao meu trabalho de mestrado você sempre me ajudou quando precisei e foi muito importante nestes últimos anos. Muito obrigado por todo carinho, amizade, atenção, dedicação, conversas e risadas.

Ao Juliano Marangoni e ao Maurício Camargo pela assistência com alguns esclarecimentos estatísticos. Obrigado por sua paciência e disposição em me ajudar.

Ao Eduardo Secchi por toda amizade, carinho, conversas e toda dedicação para com o ECOMEGA em termos estruturais e de formação pessoal e profissional. Edu, obrigado por acreditar em mim. À Rafa, Enzo e Moana também agradeço com todo coração por

esse amor incrível. Vocês sempre serão minha família aqui no Cassino e foram muito importantes nesses últimos 10 anos que vivi aqui. Amo vocês.

À Lis Bittencourt e todos os acústicos e furiosos do MAQUA obrigado por todo incentivo, risadas e trocas que foram essenciais para minha formação e crescimento do propósito da acústica na conservação. Vocês fizeram muita falta por aqui nesses dois anos e meio, me alegro de ter passado bons momentos com vocês no RJ.

Aos meus queridos amigos que foram muito importantes nesses últimos anos. Obrigado Fernandinho, Maurílio, Azul, Lino, Bruno, Yuri, Marcel, Pablo, Henrique Mesquita, pessoas que de alguma forma me deram forças para seguir em frente.

À minha Vó Enilda, minha flor, por todas as rezas, fé e todo o amor do mundo. Te amo.

À Flavia Macedo, amada companheira de caminhada e amiga que foi muito importante para que este ciclo se finalizasse da forma como deveria. Obrigado por todo incentivo, conversas, risadas e amor.

Aos meus primos e primas, de sangue e coração, que sempre acreditaram em mim.

Por último, mas não menos importante, à todas as pessoas que vieram antes de mim e construíram o conhecimento para que este trabalho fosse possível de ser realizado. Trabalhamos em ombros de gigantes.

Sem amor eu nada seria.

ÍNDICE

	Página
RESUMO.....	7
ABSTRACT.....	8
APRESENTAÇÃO.....	9
CAPÍTULO 1.....	10
1. Introdução.....	11
2. Objetivos.....	17
3. Material e Métodos.....	17
4. Síntese dos resultados.....	25
5. Conclusões.....	26
Referências bibliográficas.....	27
ANEXO I – Microgeographic variation in the whistle repertoire of Lahille’s	
bottlenose dolphin (<i>Tursiops truncatus gephyreus</i>) in southern Brazil.....	38
Abstract.....	39
1. Introduction.....	40
2. Methods.....	42
3. Results.....	48
4. Discussion.....	59
References.....	67

RESUMO

O objetivo principal deste trabalho foi caracterizar e avaliar as variações microgeográficas nas emissões de assobios de três unidades sociais do boto-de-Lahille (*Tursiops truncatus gephyreus*), as quais se sobrepõem parcialmente no espaço e no tempo quanto ao uso de área do estuário da Lagoa dos Patos e região costeiras adjacentes no sul do Brasil. Objetivamos secundariamente investigar a variabilidade destas vocalizações em função de fatores bióticos e abióticos. Assim, assobios foram gravados durante 22 saídas de campo realizadas em um período de um ano (01/2017 - 01/2018), utilizando-se um hidrofone HTI-96-MIN (*High Tech Inc.*, com sensibilidade de -165dB re: 1V/ μ Pa e resposta de frequência de 5 - 30 kHz) conectado a um gravador Tascam DR-680MKII, com uma taxa de amostragem de 96kHz. Adquiriram-se 5304 assobios, dos quais 1926 foram selecionados para análise segundo critério de qualidade. Para verificar possíveis variações no repertório das unidades utilizaram-se apenas assobios de grupos foto-identificados cuja unidade social era única, totalizando 193 assobios. O maior valor de frequência máxima dos botos estuarinos superou os das unidades costeiras em mais de 5 kHz (22,24 kHz). De todos os parâmetros acústicos, o número de pontos de inflexão e a duração do assobio expressaram os maiores coeficientes de variação. Modelos lineares generalizados indicaram variações em vários parâmetros acústicos dos assobios dos botos entre as três unidades sociais. O parâmetro faixa de frequência foi importante para distinção entre as três unidades sociais. Duração e ponto de inflexão também foram importantes; entretanto, somente na diferenciação entre a unidade norte e a estuarina. Modelos aditivos generalizados demonstraram que fatores biológicos, como tamanho de grupo, presença de filhotes e comportamento de superfície, e abióticos, como local e temperatura, possuem relações significativas com alguns dos parâmetros acústicos analisados. Durante o comportamento de deslocamento, os botos utilizaram frequências geralmente mais baixas para se comunicar em comparação com outros estados comportamentais como alimentação. Assobios registrados ao longo costa (i.e. localidades norte e sul) apresentaram frequências significativamente menores em comparação à região estuarina. Nossos resultados indicam uma variação microgeográfica nos assobios do boto-de-Lahille no sul do Brasil, ressaltando a importância da bioacústica como ferramenta para distinção e caracterização populacional desta subespécie.

Palavras-chave: metapopulação, unidade social, variação intraespecífica, vocalizações, acústica

ABSTRACT

The main objective of this work was to characterize and evaluate the microgeographic variations in whistle emissions from three social units of Lahille's bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus gephyreus*) which partially overlap in space and time in the use of the Patos Lagoon Estuary and adjacent coastal region, in southern Brazil. In addition, we aimed to assess the variability of these vocalizations as function of abiotic and biotic factors. Acoustic recordings were acquired during 22 field trips conducted over one year (01/2017 - 01/2018), using a HTI-96-MIN hydrophone (High Tech Inc., with a sensitivity of -165dB re: 1V / μ Pa and 5 - 30 kHz frequency response) connected to a Tascam DR-680MKII recorder, with a sampling rate of 96 kHz. Of 5304 whistles recorded, 1926 were selected for further analyses following quality criteria. Also, only whistles from photo-identified groups for which the social unit was identified (and was unique) were used to assess variations in social unit repertoire, totaling 193 whistles. The highest maximum frequency value for estuarine dolphins exceeded that of coastal units by more than 5 kHz (22.24 kHz). Of all the acoustic parameters, the number of inflection points and whistle duration resulted in the highest coefficients of variation. Generalized linear models indicated that many whistle parameters differed among the three social units. The frequency range parameter was important for distinguishing the three social units. Duration and inflection point were also important; however, only in the differentiation between the northern and estuarine units. Generalized additive models showed that biological factors, such as group size, calf presence and surface behavior and abiotic factors, such as location and temperature, had significant relationships with some of the acoustic parameters analyzed. During traveling behavior, dolphins generally emitted lower frequencies to communicate in comparison to other behavioral states such as feeding. Whistles recorded along the coast (i.e. north and south locations) showed significantly lower frequencies compared to the estuarine region. Our results indicate microgeographic variations in the whistles of Lahille's bottlenose dolphin in southern Brazil, highlighting the importance of bioacoustics as a tool for distinguishing and characterizing populations of this subspecies.

Key words: metapopulation, social unit, intraspecific variation, vocalizations, acoustics

APRESENTAÇÃO

A presente Dissertação foi estruturada em um capítulo e um anexo em formato de artigo científico. O Capítulo 1, redigido em língua portuguesa, apresenta uma introdução geral, hipóteses e objetivos, material e métodos e uma síntese dos principais resultados. O anexo I corresponde ao artigo da dissertação, submetido à revista “*Journal of the Acoustical Society of America*” (JASA), redigido em língua inglesa.

CAPÍTULO 1

1. Introdução

Comunicação é uma ferramenta essencial para os seres vivos, permitindo a troca e expressão mútua entre indivíduos e populações (Brudzynski 2010, Krause 2012). Este fluxo informativo pode-se expressar sob diversas formas, inclusive como energia mecânica através do som (Rossing 2007). Diversos seres vivos, de pequenos insetos a grandes baleias, dependem da eficiência do sistema sonoro para transmitirem informações adequadamente e estabelecerem uma conexão entre si (Bradbury & Vehrencamp 1998). Inúmeros aspectos essenciais da vida destes animais (e.g. reprodução, comunicação, alimentação e localização) dependem da emissão e recepção de som (Au & Hastings 2008, Fay et al. 2008, Frankel 2018).

Mamíferos terrestres basicamente dependem da visão, audição, quimiorrecepção e toque no que tange a comunicação e compreensão do ambiente ao seu redor (Raven & Johnson 2002). Por outro lado, o ambiente aquático fornece condições físicas e químicas completamente diferentes, onde a dificuldade de difusão dos sinais químicos e baixa intensidade de luz disponível limitam suas percepções a partir da visão e quimiorrecepção. Como a densidade do meio está diretamente relacionada à eficiência de propagação das ondas mecânicas, o som propaga-se de maneira muito eficiente na água, aumentando seu alcance e sua velocidade de deslocamento (i.e. cerca de 4 vezes mais rápido) (Bradley & Stern 2008). Estas propriedades acústicas fazem do som um veículo muito potente para o sistema sensorial, a partir do qual os mamíferos aquáticos navegam, comunicam-se e localizam suas presas (Wartzok & Ketten 1999). Tal adaptação os permitiu habitar e explorar com sucesso uma variedade de ecossistemas marinhos e fluviais ao longo de sua evolução.

Pertencentes à ordem Cetartiodactyla, os cetáceos são um grupo composto por 89 espécies (Committee on Taxonomy 2018), divididos em duas subordens: Mysticetos e Odontocetos. Distintos morfologicamente, cada subordem possui características acústicas específicas, relacionadas ao seu modo de vida e necessidades diárias (Würsig et al. 2018). Diversos trabalhos relacionados à bioacústica de cetáceos têm demonstrado a importância desta como ferramenta de transmissão de conhecimento e construção cultural, identificação individual e socialização, expressão comportamental; reprodução; forrageio e localização (Walton 1997, Janik 2000, Parks & Tyack 2005, Quintana-Rizzo et al. 2006,

Azevedo et al. 2007, Au & Hastings 2008, Wells & Scott 2018). Cetáceos são animais que possuem alto nível de cognição e socialização, desenvolvendo, através das complexas relações interindividuais, sua comunicação e cultura (Whitehead & Rendell 2015).

Dentre os Mysticetos, sabe-se que certas espécies de baleias utilizam o canto como vocalização principal [e.g. baleia azul (*Balaenoptera musculus*), baleia fin (*Balaenoptera physalus*), baleia jubarte (*Megaptera novaeangliae*), baleia franca (*Eubalaena sp.*), baleia minke (*Balaenoptera acutorostrata*) e baleia da groelândia (*Balaena mysticetus*)] emitindo repetidamente sons de baixa frequência (i.e. de 20 Hz a 24 kHz) (Darling 2018). Por suas características acústicas, estas vocalizações permitem que estes animais estabeleçam um contato acústico a longas distâncias, podendo alcançar centenas de quilômetros em regiões profundas das bacias oceânicas (Darling 2018). As vocalizações da baleia jubarte, por exemplo, podem ser utilizadas para caracterizarem estoques populacionais e para o estudo de suas interações (Cerchio 1993, Cerchio et al. 2001). Distintos cânticos destes animais evidenciam populações isoladas entre si, ao passo que cânticos de populações distantes geograficamente, com padrões fonéticos semelhantes, indicam que estas populações se encontram em algum momento de seu ciclo migratório, incorporando novas formas de comunicação e desenvolvendo sua cultura (Cerchio 1993, Whitehead & Rendell 2015).

Os odontocetos, por outro lado, são animais que utilizam sons de ondas curtas com frequências mais altas, estabelecendo um contato acústico ativo mais restrito, no caso do *Tursiops truncatus*, até cerca 25 km de distância dependendo de fatores de atenuação energética (Janik 2000, Janik 2009). Dentre este grupo, as cachalotes (*Physeter macrocephalus*), orcas (*Orcinus orca*) e o golfinho nariz-de-garrafa (*Tursiops truncatus*) são, sem dúvida, os membros mais estudados, com complexos sistemas de socialização e aprendizado (Whitehead & Rendell 2015, Würsig et al. 2018). Orcas e cachalotes são caracterizadas por constituírem sociedades matrilineas fortemente estruturadas. Diferentemente de sociedades matriarcais, onde fêmeas mais velhas tem poder e influência, o termo “matrilíneo” é empregado quando grande parte das fêmeas de uma sociedade passam sua vida pertencendo à mesma unidade social natal. Diferentemente de orcas e cachalotes, as sociedades de golfinhos se estruturam de forma fluída, em um sistema chamado fissão-fusão, caracterizado por alto nível de plasticidade comunicativa (May-Collado 2010).

Diversas vocalizações podem ser produzidas por estes animais dependendo da atividade realizada, podendo ser divididas em três tipos principais: sons pulsantes (*burst pulses*); assobios; e cliques de ecolocalização (Tyack & Clark 2000, Au & Hastings 2008, Wells & Scott 2018). Tanto cliques como sons pulsantes, diferentemente de assobios, são sinais acústicos expressos em forma de pulsos, caracterizados como sons banda larga utilizados principalmente para localização (i.e. alimentação, navegação) e comunicação, respectivamente (Au et al. 1980, Lammers et al. 2003). Dentre estes, assobios e sons pulsantes são emitidos por grande parte dos delfínídeos, com poucas exceções (Frankel 2018). Em delfínídeos, assobios são considerados sons tonais de banda estreita, com a maior parte de sua energia abaixo de 20 kHz (Au 2000). Tecnicamente, podem ser caracterizados como sons com mais de 0,1s de duração (Lilly & Miller 1961, Janik et al. 2013), expressos dentro da faixa de frequência fundamental de 2 a 35 kHz, com harmônicos alcançando entorno de 100 kHz (Lammers & Au 2003, Rasmussen & Miller 2004). Caldwell et al. (1990) classificaram os assobios do *Tursiops truncatus* em “assinatura” (ou chamadas de contato) e “variantes”. Os assobios assinatura são sinais estereotipados e específicos de cada indivíduo, frequentemente emitidos em sequências características, demonstrando-se estáveis ao longo do tempo e com funções relacionadas à coesão do grupo (Janik et al. 1994, Janik & Slater 1998, Janik et al. 2013). Por outro lado, os assobios variantes não são específicos do indivíduo, são muito menos estáveis e são produzidos em uma variedade de contextos sociais (Caldwell et al. 1990). De maneira geral, as vocalizações do tipo assobio desempenham um papel crucial nas interações sociais e comunicação de golfinhos (Janik 2009).

O golfinho nariz de garrafa, *Tursiops truncatus* (Montagu 1821) é o delfínídeo mais estudado com relação à biologia e bioacústica (Würsig et al. 2018). Seu aprisionamento em cárceres (i.e. parques aquáticos e aquários comerciais) desde a década de 1914 facilitou estudos controlados com a espécie e permitiu a fundamentação de grande parte do conhecimento de sua biologia (McBride & Hebb 1948, Lilly 1962). Entretanto, sua ampla distribuição geográfica e acessibilidade em regiões costeiras (Wells & Scott 2018) permite que se adquira importantes informações quanto à sua comunicação e uso do som, em consonância com sua biologia e aspectos de vida no ambiente natural. Estudos conduzidos ao redor do mundo têm demonstrado que o golfinho nariz de garrafa forma sociedades hierárquicas complexas, com inúmeras conexões interindividuais,

dentro e fora de uma população (Connor et al. 2000, Baker et al. 2017, Wells & Scott 2018), apresentando alto potencial adaptativo aos diferentes estímulos ambientais (Berta & Sumich 1999). Dotados de alta capacidade de aprendizado vocal (Janik & Slater 1997, Janik 2000), suas associações intra-populacionais formam complexas redes sociais, com intensidade e frequência de associação distintas entre indivíduos (Baker et al. 2017, Genoves 2013). No caso do *Tursiops truncatus* uma das principais ferramentas de conexão inter-individual são os assobios (Sayigh & Janik 2018) permitindo a troca de conhecimento e intenso fluxo de informação (Janik 2009, Whitehead & Rendell 2015).

Estudos que descrevam o repertório de assobios dessa espécie, assim como as variações desse tipo de vocalização de acordo com aspectos comportamentais, são muito importantes para se acessar os padrões de comunicação populacional. Diversos trabalhos vêm avaliando as adequações acústicas deste tipo de vocalização com relação a estados comportamentais de excitação (e.g. alimentação e socialização) ou estados mais calmos como descanso (Bazúa-Durán & Au 2004, Quick & Janik 2008, Janik 2009, May-Collado 2013, Heiler et al. 2016). Observa-se que em comportamentos mais agitados, tanto golfinhos como uma gama de espécies de mamíferos (Briefer 2012), emitem vocalizações com frequências fundamentais mais altas (Heiler et al. 2016). Acredita-se que as características dos assobios emitidos por golfinhos possam variar também de acordo com as associações entre os indivíduos (McCowan et al. 1998), bem como entre diferentes áreas (Bazúa-Durán & Au 2004). Como cada animal possui habilidade de aprendizado e repetição individual (Janik 2000), é possível que em uma mesma região a composição dos assobios mude de acordo com a diversidade das interações sociais entre golfinhos com distintas culturas (Whitehead & Rendell 2015). Assim, associações entre indivíduos da mesma população e/ou populações distintas (Connor et al. 2000), podem conduzir a um aumento potencial da sua complexidade acústica. Alguns trabalhos veem investigando possíveis variações de repertório entre populações distintas geograficamente, em pequena ou larga escala, (Ding et al. 1995, Jones & Sayigh 2002, Bazúa-Durán & Au 2004, May-Collado & Wartzok 2008, Bird 2012, Hoffmann et al. 2012, Samarra et al. 2015, Kaplan & Reiss 2017, La Manna et al. 2017). No oceano Pacífico Norte, Bazúa-Durán & Au (2004) encontraram uma diferenciação de entorno 52% nas características dos assobios entre populações do golfinho-rotador (*Stenella*

longirostris) dentre quatro ilhas do Havaí (i.e. Kauai, Oahu, Lanai e Havaí), sugerindo uma variação microgeográfica dos assobios destes golfinhos.

No Oceano Atlântico Sul Ocidental (SWAO – *Southwestern Atlantic Ocean*) o *T. truncatus*, encontrado até a latitude 55°S (Goodall et al. 2011), forma diversas populações costeiras e oceânicas ao longo de todo SWAO (Bastida et al. 2007, Fruet et al. 2014, Di Tullio et al. 2015). Atualmente, debate-se sobre a existência de dois distintos ecótipos ao longo do SWAO: costeiro e oceânico (Duffield et al. 1983, Goodall et al. 2011, Perrin et al. 2011, Costa et al. 2016, Fruet et al. 2017). O ecótipo costeiro, validado como uma subespécie, boto-de-Lahille (*Tursiops truncatus gephyreus*) (Costa et al. 2016, Committee on Taxonomy 2018), distribui-se ao longo da costa do sul do Brasil, Uruguai e Argentina (Fruet et al. 2014). Além de apresentarem aspectos morfológicos distintos (i.e. diferenças de coloração, tamanho, craniometria, forma da nadadeira e rostro), os ecótipos diferem-se significativamente em relação à genética e comportamento (Wickert et al. 2016, Costa et al. 2016, Fruet et al. 2017). As populações costeiras do boto apresentam tipicamente baixa diversidade genética e podem ser divididas em duas populações principais ou Unidades Evolutivas Significativas (ESUs) (Fruet et al. 2014): uma população ao longo da costa da Argentina (BSA), e outra distribuída entre a costa uruguaia (34 ° 55'S) e a costa sul do Brasil (SB-U), a qual é formada por uma metapopulação constituída por no mínimo cinco diferentes comunidades de botos com níveis moderados de conectividade (Fruet et al. 2014).

Localizada na porção sul da costa sul do Brasil, a foz do Estuário da Lagoa dos Patos (PLE) e a costa adjacente representam uma área importante para três comunidades da metapopulação do SB-U (Fruet et al. 2014, Genoves 2013, Genoves et al. *in press*). Análises de redes sociais do boto na região, estudadas extensivamente desde 2005 (Genoves 2008, Genoves 2013), sugeriram que os principais mecanismos que moldam essas comunidades são o uso de diferentes ambientes e os padrões individuais de associação (Genoves 2013, Genoves et al. *in press*). Portanto, combinados com protocolos padrão de foto-identificação (Hammond et al. 1990), onde os golfinhos são identificados individualmente com marcas de longa duração em sua nadadeira dorsal, tais diferenças levaram à proposição de três unidades sociais para a região do PLE (Genoves et al. *in press*). Uma das unidades é composta por botos residentes que utilizam regularmente a foz do estuário e estão fortemente associados à região do PLE, totalizando

uma população de cerca de 83 botos (IC 95% = 78 a 88) (Dalla Rosa 1999). Essa unidade social tem sido estudada de forma intermitente desde 1974, e estimativas recentes sugerem que sua abundância tem sido relativamente estável (Fruet et al. 2015). Associado ao litoral adjacente norte e sul, as outras duas unidades sociais são estimadas em cerca de 19 e 21 indivíduos, respectivamente (Genoves et al. *in press*). Ao contrário dos botos residentes do PLE, alguns indivíduos da unidade sul foram identificados como animais uruguaios (Laporta et al. 2016, Genoves et al. *in press*).

A maior parte do conhecimento sobre a bioacústica desta espécie no SWAO é restrita a poucas publicações (Azevedo et al. 2007, Tellechea et al. 2014, Lima et al. 2016, Romeu et al. 2017) e alguns trabalhos acadêmicos não publicados (Hofmann 2004, Bueno 2015, Duque 2017, Milanelli 2017), todos com assobios. Com exceção de Duque (2017) e Romeu et al. (2017) que analisaram, respectivamente, interações com outras espécies e forrageio cooperativo com pescadores artesanais, todos os outros trabalhos objetivaram a descrição e caracterização dos assobios de determinadas populações. Trabalhos que visem caracterizar vocalizações do tipo assobio são muito importantes para a construção do conhecimento sobre a comunicação e socialização dessa espécie. No Estuário da Lagoa dos Patos (PLE) e adjacências costeiras no sul do Brasil, Azevedo et al. (2007) realizaram o primeiro estudo sobre a bioacústica do boto na região, caracterizando o repertório de assobios destes animais através da análise de 788 assobios. Os autores utilizaram estatísticas descritivas (média, desvio padrão, máximos e mínimos e coeficiente de variação) para caracterização das vocalizações, caracterizando cada emissão através da medida de oito parâmetros acústicos, além de classificar cada assobio de acordo com sua forma de contorno. Mais recente, Milanelli (2017) fez uma nova caracterização do repertório de assobios dos botos para região, apenas para os indivíduos considerados residentes do PLE, e não encontrou diferenças com o estudo prévio.

Este trabalho procurou avaliar as variações microgeográficas nas emissões de assobios entre as três unidades sociais do boto de Lahille (*Tursiops truncatus gephyreus*) no sul do Brasil, e também investigar a variabilidade destas emissões em função de fatores bióticos e abióticos. A existência de um projeto de longa duração, fundamentando o conhecimento prévio sobre a estruturação social dos botos da região, representa uma oportunidade singular para investigação, em fina escala, de variações microgeográficas das suas vocalizações. Portanto, ao identificar os principais fatores que distinguem e

caracterizam o repertório do boto de Lahille, fornecemos informações importantes para melhor discriminar as comunidades de botos do sul do Brasil.

2. Objetivos

Geral:

- Determinar o repertório de assobios do boto-de-Lahille, na região do Estuário da Lagoa dos Patos (RS) e áreas costeiras adjacentes, e analisar a variação intra-específica dessas emissões sonoras.

Específicos:

- I. Caracterizar os parâmetros acústicos dos assobios do boto na região de estudo;
- II. Analisar a variação dos assobios entre as 3 unidades sociais de botos na área de estudo;
- III. Analisar a variação dos assobios em função de fatores bióticos (comportamento, tamanho e composição de grupo – presença de filhote) e abióticos (local de gravação e temperatura superficial do mar).

3. Material e métodos

Área de estudo

Este estudo foi realizado em uma área de 90 km² ao longo da costa sul do Brasil, no estuário da Lagoa dos Patos (PLE) e no litoral adjacente (~ 32 ° W, ~ 52 ° S) (Fig. 1). Localizada a cerca de 200 km do Uruguai, esta região é sazonalmente influenciada pelas águas frias da corrente das Falklands no inverno e pelas águas quentes da Corrente do Brasil no verão (Legeckis & Gordon 1982). A Lagoa dos Patos é a maior lagoa estrangulada do mundo (Kjerfve 1986), e seu estuário representa uma importante fonte de descarga fluvial para o SWAO (Lutz et al. 2018). Os estuários estão entre os ecossistemas marinhos mais produtivos, contendo fauna e flora diversificadas (Nixon et al. 1986, Odebrecht et al. 2010). No PLE e litoral adjacente, fatores meteorológicos e oceanográficos (e.g. tempestades, água com alta concentração de nutrientes da Corrente das Falklands e do Rio da Prata) podem promover o incremento da disponibilidade de nutrientes na região, configurando uma área altamente produtiva (Abreu et al. 1995,

Müller & Casting 1999, Lutz et al. 2018). Assim, a região entre e ao redor dos molhes do PLE, constitui um importante habitat para atividades vitais do boto-de-Lahille no sul do Brasil (Mattos et al. 2007).

Procedimento em campo e foto identificação

As saídas de campo do presente trabalho foram realizadas em condições de mar similares (*Beaufort* ≤ 3), utilizando-se uma embarcação *FlexBoat (SR500)*, de 5m de comprimento, equipada com um motor de popa de 90hp. A área monitorada pelo Projeto dos Botos engloba a região do estuário, e 20km ao sul e ao norte dos molhes da barra de Rio Grande, a uma distância de 1km da costa (Fig.1). Podendo, assim, ser dividida em três sub áreas: estuário, norte e sul. A análise da área monitorada seguiu um padrão de deslocamento já utilizado em trabalhos anteriores (Genoves 2013, Fruet et al. 2015), percorrendo a região em busca de botos através de transecções (Fig. 1).

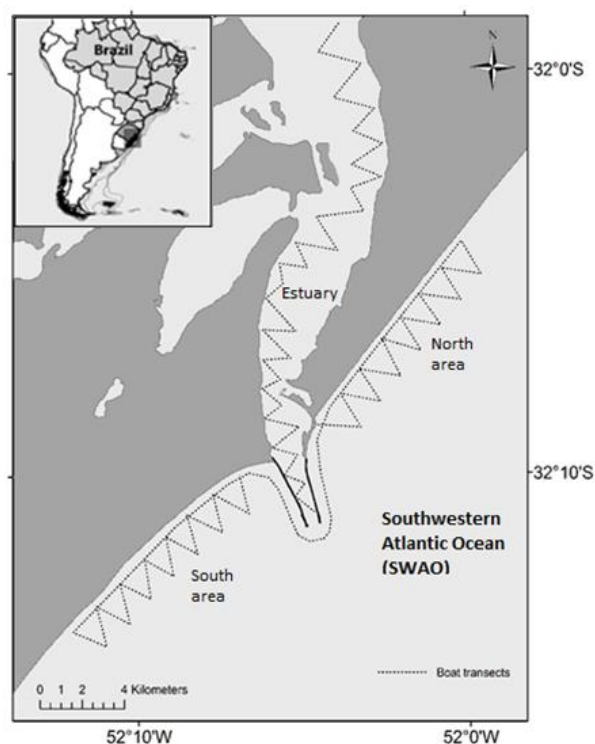


Figura 1. Mapa da área de estudo na costa sul do Brasil. A região foi analisada através de transectos ao longo do Estuário da Lagoa dos Patos e litoral adjacente, e classificada em três sub-áreas.

Quando avistado um grupo de botos, aproximava-se para coleta inicial de dados (i.e. profundidade, temperatura d'água, latitude e longitude, hora inicial) e início da foto-

identificação (foto-id) e análise comportamental do grupo de botos. O método de foto-id consiste na identificação de suas marcas permanentes ou temporárias, no dorso e nadadeira dorsal de cada boto (Fig. 2) (Hammond et al. 1990), proveniente de relações sociais, má formação ou interações antrópicas (e.g. redes de pesca). Os botos foram foto identificados para que fosse possível distinguir à que unidade social pertenciam, possibilitando a seleção somente de grupos com indivíduos estuarinos, nortenhos ou sulinos. As fotografias foram adquiridas com uma máquina digital Nikon D7200 com lente multifocal Nikon de 70-200mm ou lente fixa de 300mm. Em laboratório as fotos foram processadas no programa Picasa 3.



Figura 2. Nadadeira dorsal de um boto-de-Lahille, com marcas passíveis de identificação individual.

Concomitante ao processo de foto-id caracterizou-se os grupos quanto à constituição (filhote, juvenil, sub-adulto e adulto), quantidade de indivíduos (mínimo, máximo e melhor) e comportamento. Os comportamentos foram caracterizados como alimentação, deslocamento, socialização e *milling* (Shane et al. 1990), de forma não excludente. Neste trabalho, o comportamento de deslocamento e alimentação, independente da ordem de presença durante o esforço, foi chamado de deslocamento com alimentação, expressando o comportamento característico do grupo. Somente após a devida foto-identificação do grupo, realizava-se o processo de gravações acústicas.

Quando as condições do tempo não permitiram seguir com o trabalho de campo, encerrava-se o esforço.

Gravações bioacústicas

As gravações de repertório do *T. truncatus gephyreus* foram realizadas na região do estuário da Lagoa dos Patos e adjacência costeiras, compreendendo o período de um ano, entre janeiro/2017 e janeiro/2018. O sistema de gravação utilizado foi composto por um hidrofone HTI-96-MIN (*High Tech Inc*, com sensibilidade de -165dB re: 1V/μPa e resposta de frequência de 5 Hz a 30 kHz), conectado a um gravador *Tascam DR-690 MKII* com taxa de amostragem 96kHz. As gravações, realizadas com o hidrofone posicionado entre 3 e 4m de profundidade (de acordo com a batimetria do local), foram realizadas com o motor do barco e sonda desligados. O processo de análise comportamental e constituição do grupo, concomitante à foto-id e gravações, foi realizado com atenção para que estes fatores tivessem o controle necessário para serem utilizados nas análises. Dados sobre os comportamentos de superfície foram obtidos durante as gravações e classificados como proposto por Shane (1990). Em situações onde houvesse a mudança dos indivíduos constituintes do grupo, que estivessem presentes, a gravação era encerrada e se iniciava uma nova avistagem para foto identificá-los. Mudanças no comportamento padrão do grupo eram anotadas, iniciando um novo *track* com o tipo comportamento atualizado caso esse se modificasse.

Análise de assobios

As análises acústicas dos assobios foram realizadas no *software Raven Pro 1.5* (*Cornell Laboratory of Ornithology, NY, USA*), através de espectrogramas de frequência (*Hanning window*, FFT de 512), com sobreposição de 50%. A caracterização de repertório foi executada através de duas análises principais, aplicadas extensivamente em trabalhos de bioacústica, uma qualitativa e outra quantitativa (Englund 2014, Azevedo & Van Sluys 2005, Bazúa-Durán & Au 2002). A análise quantitativa, adquirindo as medidas individuais dos parâmetros de frequência de cada assobio, duração e inflexões, e a qualitativa, classificando-os de acordo com suas características de contorno. Selecionou-se para análise (i.e. classificação e extração dos parâmetros acústicos), somente assobios cujos contornos pudessem ser completamente determinados, tendo seu início e fim

claramente distinguíveis, bem como seus limites máximos e mínimos. Portanto, assobios que apresentassem sobreposição entre si ou com outros sons (e.g. ruído, cliques, *burst pulses*), comprometendo sua caracterização, não foram analisados.

Adicionalmente classificou-se os assobios quanto à sua característica de repetir-se sequencialmente, identificando-os como: não sequenciais (NS); primeiro sequencial (PS); e sequenciais (S) (Fig. 3). Assobios que apareceram em sequência, com um tempo de emissão de até 10s (Janik et al. 2013) foram caracterizados como sequencias (S), iniciando pelo primeiro assobio de cada sequência (PS). Esse procedimento foi implementado para que assobios emitidos com maior repetição não viessem a tendenciar os repertórios das unidades sociais (Caldwell & Caldwell 1965, Caldwell et al. 1990).

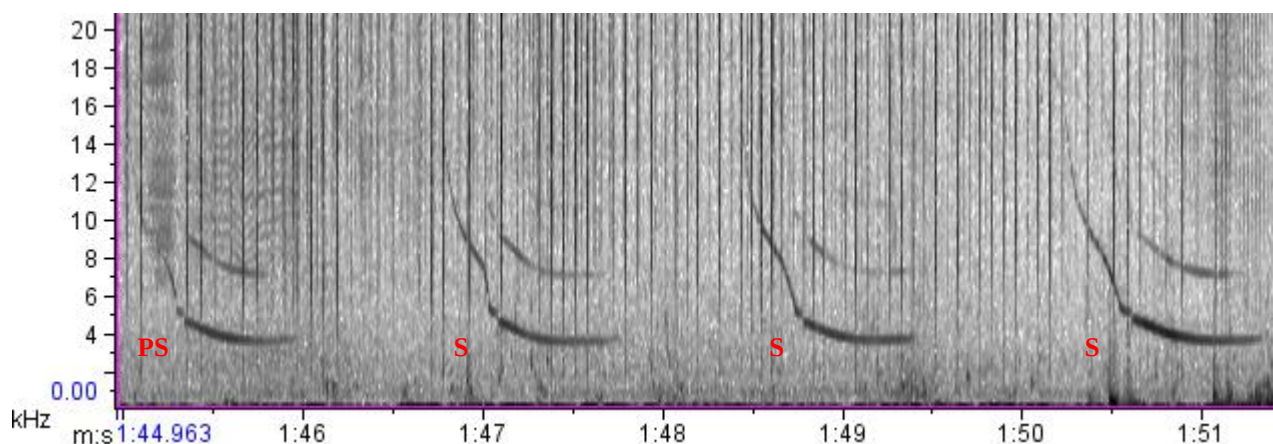


Figura 3. Assobios em sequência do boto-de-Lahille identificando o primeiro sequencial e sequenciais posteriores.

Na caracterização quantitativa, doze parâmetros acústicos de cada assobio foram adquiridos: frequência inicial (FI); frequência final (FF); frequência máxima (Fmax); frequência mínima (Fmin); delta de frequência (DF – diferença entre frequência máxima e frequência mínima); frequência central (FC – a frequência correspondente a 50% da energia do assobio); frequência de pico (FP - indica onde há a maior intensidade no assobio); frequência a $\frac{1}{4}$ da duração ($F^{\frac{1}{4}}$); frequência a $\frac{3}{4}$ da duração ($F^{\frac{3}{4}}$); frequência média ($F_{med} = (FI+FF+Fmin+Fmax)/4$); duração do assobio (Dur); número de inflexões (Inf); harmônicos. Dentre estes, 11 parâmetros foram mensurados no *software Raven Pro 1.5* (Cornell Laboratory of Ornithology, NY, USA). As variáveis de frequência foram medidas em kHz e de tempo em milissegundos (ms). Esses parâmetros descritos acima

foram escolhidos por serem utilizados como ferramenta de análise em estudos prévios de delfínídeos (Gridley et al. 2015, Kaplan & Reiss 2017, Andrade et al. 2015, May-Collado 2013, Azevedo & Van Sluys 2005), além de serem facilmente mensurados a partir do espectrograma (Fig. 4).

Adicionalmente aos parâmetros citados acima, a taxa de emissão de assobios (TE) foi calculada possibilitando a relação do número de assobios emitidos por indivíduo com fatores como o contexto comportamental, tamanho e constituição do grupo, por exemplo (Papale et al. 2017, Luís et al. 2016, Hawkins & Gartside 2010, Quick & Janick 2008, Santos et al. 2005). Estimou-se essa taxa a partir da divisão do número total de assobios (N) do grupo pela duração da gravação em minutos (T) e, por fim, pelo número de indivíduos (Ind) contabilizados no grupo, ou seja, $TE = N/T/Ind$.

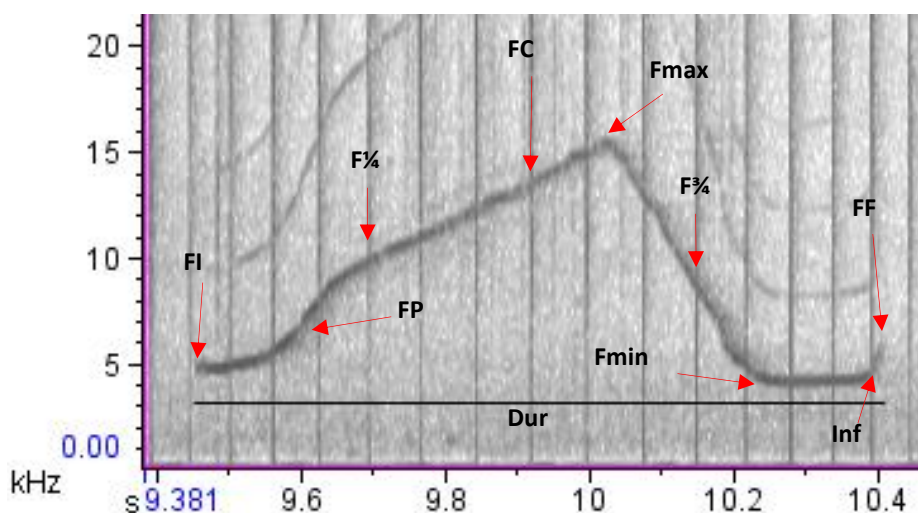


Figura 4. Assobio do boto-de-Lahille, indicando alguns parâmetros acústicos medidos. Eixo X está representado em segundos e Y em kHz.

A caracterização qualitativa levou-se em conta o ponto de inflexão como uma variação > 1 kHz, separando visualmente os assobios de acordo com suas categorias de contorno. Dentre estas formas, catalogou-se os diferentes tipos de assobios emitidos. As formas de contornos foram: ascendente (AC - assobio crescente em frequência, sem pontos de inflexão), descendente (DC - assobio diminui sua frequência ao longo do tempo, sem ponto de inflexão), constante (CONST - assobios com uma variação de frequência ≤ 1 kHz), ascendente-descendente (AC-DC - inicialmente com frequências crescentes até o ponto de inflexão, onde modifica sua característica e diminui sua

frequência ao longo do tempo), descendente-ascendente (DC-AC - inicialmente com frequências descendentes até o ponto de inflexão, onde se modifica e inicia um aumento da frequência pelo tempo) e múltiplos (MULTI - assobios que possuem mais de um ponto de inflexão), de acordo com a classificação utilizada por Azevedo & Van Sluys, (2005) (Fig. 5). Este processo foi realizado por duas pessoas distintas para reduzir o erro associado ao observador.

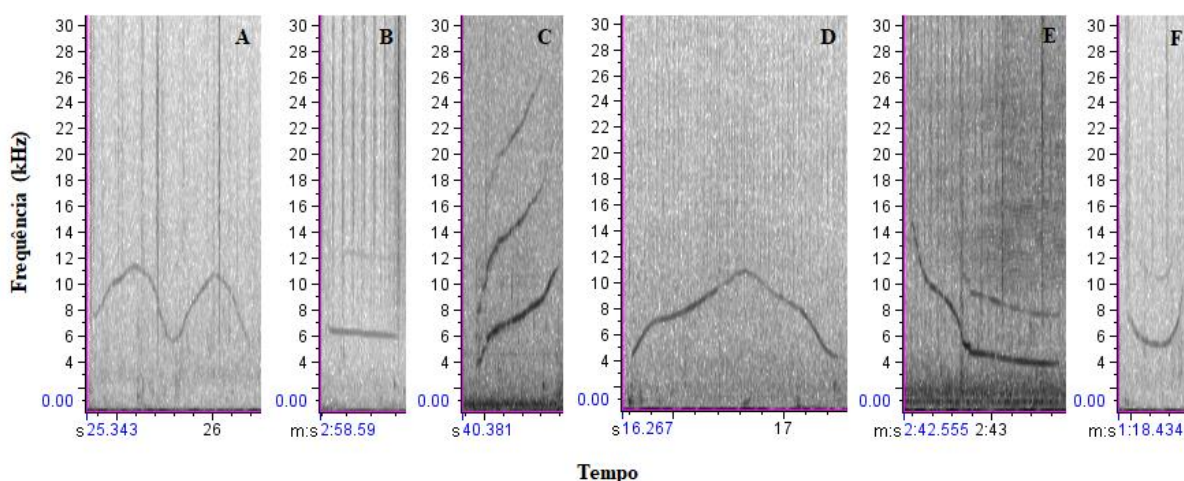


Figura 5. Características de contornos dos assobios do boto-de-Lahille: (A) multi, (B) constante, (C) ascendente, (D) ascendente-descendente, (E) descendente e (F) descendente-ascendente.

Além das análises descritas acima, caracterizou-se os assobios quanto às informações do grupo foto identificado. Portanto, cada assobio foi correlacionado com dados de comportamento, tamanho de grupo, presença/ausência de filhotes e unidade social de cada boto (i.e. unidade social do estuário - USE, do norte - USN ou do sul - USS).

Análises Estatísticas

A análise exploratória dos dados foi realizada para identificar *outliers*, colinearidade e outros problemas potenciais no conjunto de dados (e.g. Zuur et al. 2010). Para avaliar repertórios representativos de cada unidade social, utilizamos dados de grupos identificados de botos estuarinos, nortenhos e sulinos. Além disso, selecionamos apenas assobios PS e NS para evitar possíveis vieses de assobios assinaturas que, como relatado em outros lugares (Cook et al. 2004, Watwood et al. 2005), podem representar quase 50% dos assobios registrados em golfinhos de vida livre. Para cada parâmetro

acústico, calculamos os valores de média, desvio padrão, mediana, máximos e mínimos. O teste do χ^2 foi utilizado para comparar a frequência dos assobios em cada categoria de contorno, entre as três unidades sociais (X^2 ; $\alpha = 0,05$), onde maior o valor X^2 , maior a diferença entre os locais (e.g. Bazúa-Duran 2004).

Modelos lineares generalizados (GLMs) (e.g. Zuur et al. 2009) foram utilizados para investigar se os valores médios de cada parâmetro dos assobios diferiam entre as unidades sociais. Exceto pelo número de pontos de inflexão, que foi modelado com uma distribuição de erro *quasi-Poisson* e função de ligação logarítmica, todos os outros parâmetros consistiam em variáveis resposta contínua e foram modelados com uma distribuição de erro tipo *Gamma* e função log-link. As unidades sociais foram incluídas como covariáveis categóricas em cada modelo. Utilizou-se somente assobios correspondentes aos grupos formados por botos estuarinos, nortenhos e sulinos, adquirindo vocalizações representativas de cada unidade social, como descrito anteriormente.

Modelos aditivos generalizados (GAMs) foram ajustados para avaliar a influência em cada parâmetro dos assobios e também na taxa de emissão dos seguintes fatores: tamanho do grupo, presença de filhotes, comportamento superficial (alimentação, deslocamento, deslocamento com alimentação e socialização), localidade (estuário, norte e sul) e temperatura superficial do mar (*sea surface temperature* - SST), expressa em graus Celsius. Similar aos GLMs, o número de pontos de inflexão foi modelado com uma distribuição *quasi-Poisson* e os outros parâmetros acústicos e taxa de emissão de assobios com uma distribuição de erro tipo *Gamma* e função de ligação logarítmica. O tamanho do grupo e SST foram incluídos como termos não lineares com o parâmetro de dimensão de base, k , definido como 4, para restringir a ondulação das funções de suavização (e.g. Wood 2017) e assim obter relações funcionais com maior representatividade ecológica. Todas as outras variáveis explicativas foram incluídas como variáveis categóricas.

Todos os procedimentos estatísticos foram realizados em R (*The R Foundation for Statistical Computing*, Viena, Áustria, <http://www.r-project.org>) através da interface do RStudio (versão 3.5.1). Os GAMs foram adaptados usando o pacote do R "mgcv" (Wood 2017). A seleção do modelo foi baseada no *Akaike Information Criterion* (AIC), deviência explicada, e um exame visual de parcelas residuais, seguindo procedimentos de referência (ver Zuur et al. 2009, Wood 2017).

4. Síntese dos resultados

Anexo 1: Microgeographic variation in the whistle repertoire of Lahille's bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus gephyreus*) in southern Brazil

- Foram realizadas 22 saídas de campo na região do PLE e área costeira adjacente, totalizando 18h e 54min de gravações, respectivos à amostragem de 64 grupos de botos. Um total de 5304 assobios foram gravados, dentre os quais 1926 apresentaram características acústicas adequadas e foram considerados aptos para posteriores análises. Destes, 193 (10%) foram considerados adequados para análise de distinção microgeográfica entre as unidades sociais. Esse subconjunto de dados totalizou 127 assobios de botos estuarinos, 36 de nortenhos e 30 de sulinos (Tabela 1).
- Em linhas gerais, observou-se uma variação microgeográfica no repertório de assobios do boto entre as três unidades sociais abordadas, como demonstrado pelos resultados dos modelos lineares generalizados (Tabela 4). As frequências inicial, pico e mínima, por exemplo, foram significativamente diferentes (todas $p < 0,01$) entre a unidade social estuarina e a unidade social sul. Já o modelo para o parâmetro faixa de frequência demonstrou valores p significativos entre a unidade estuarina e as costeiras, com a unidade social sul apresentando valores médios mais altos ($p < 0,05$) e a unidade social norte os valores mais baixos ($p < 0,001$) do que a unidade social estuarina. A frequência máxima ($p < 0,05$), a duração do assobio ($p < 0,001$) e o número de pontos de inflexão ($p < 0,01$) diferiram apenas para a unidade norte, todos com valores menores que a unidade estuarina. Além disso, cada unidade social demonstrou ter alguns assobios estereotipados específicos (Tabela 1). Adicionalmente, as frequências de contorno de assobio, para cada um dos seis tipos de modulação de frequência, variaram significativamente entre as unidades sociais (χ^2 , $X^2 = 43.39$, $p < 0,001$) (Tabela 2).
- Os modelos aditivos generalizados demonstraram que a variável comportamento de superfície influenciou a maioria dos parâmetros de assobio, exceto pelo número de pontos de inflexão e taxa de emissão (Tabela 5, Figura 2). Assobios emitidos durante deslocamento apresentaram valores de frequência mais baixos do que durante alimentação, para frequências mínima, final, máxima, central e de pico (todos p

<0,001). A socialização foi significativamente diferente da alimentação para frequências inicial, final e mínima, com menor frequência inicial e maiores frequências mínimas e finais.

- A duração do assobio e o número de pontos de inflexão diminuíram em média quando haviam filhotes presentes nos grupos, enquanto as frequências mínima e máxima foram em média mais altas na presença de filhotes (Tabela 5, Fig. 3).
- Em geral, assobios registrados nas localidades norte e sul (considerando somente o local de coleta e desconsiderando a identificação das unidades sociais) apresentaram frequências significativamente menores em comparação à região estuarina, exceto pela frequência central e pelo número de pontos de inflexão. Em particular, o número de inflexões foi significativamente maior para assobios registrados na área adjacente ao sul em relação ao estuário.
- Os termos suaves, tamanho do grupo e SST, também mostraram relações significativas entre a maioria dos parâmetros acústicos (Tabela 5). A frequência inicial tendeu a diminuir com o aumento do tamanho do grupo, enquanto o número de pontos de inflexão e as frequências de pico e centro aumentaram com o tamanho do grupo (Fig. 5). As taxas de emissão foram maiores nos grupos menores, sugerindo que à medida que o número de indivíduos no grupo aumenta, o número de assobios emitidos por indivíduo tende a diminuir (Fig. 5).
- Quanto à SST, todos os modelos com essa variável selecionada indicam que os parâmetros acústicos tenderam a diminuir na temperatura inicial, alcançando valores mais baixos entre 16 e 18 graus Celsius, seguidos por uma tendência crescente e pico em torno de 22°C (Fig. 6).

5. Conclusões

- As três unidades sociais abordadas, as quais são consideradas como parte da metapopulação que compõe a Unidade Evolutiva Significante do Sul do Brasil-Uruguai (SB-U ESU - Fruet et al. 2014), demonstraram variações microgeográficas em diversos parâmetros do seu repertório de assobios. Este estudo corrobora a distinção entre unidades sociais proposta por Genoves et al. (*in press*) para os botos de Lahille na região do PLE e área costeira adjacente.

- Os assobios variaram em função dos fatores bióticos e abióticos analisados neste estudo. Observou-se alterações nas frequências de produção vocal ligadas às mudanças no comportamento, onde as maiores taxas foram associadas aos comportamentos de maior agitação (e.g. alimentação e socialização). Os botos demonstraram emitir em média assobios mais curtos na presença de filhotes. Nossos resultados também sugerem que à medida que o tamanho de grupo aumenta, o número de assobios emitidos por cada boto tende a diminuir, entretanto com emissões mais longas. A temperatura superficial do mar também demonstrou influenciar as características dos assobios emitidos pelo boto. Em geral, observou-se uma oscilação sazonal ao longo de um ano para os parâmetros acústicos analisados, fato que necessita ser investigado com maior detalhamento.
- O presente trabalho demonstrou uma possível adequação vocal de botos que utilizam a área do PLE, uma região com constante ruído ambiental. Como este local é caracterizado por um intenso tráfego diário de embarcações comerciais e pesqueiras, atividades portuárias (e.g. construção de plataformas de petróleo), além de dragagens eventuais no canal, estudos futuros devem atentar para possíveis mudanças no comportamento acústico do boto na região do PLE. Para tanto, é evidente a necessidade de se caracterizar a paisagem acústica da região e investigar a relação direta entre o ruído ambiental e as vocalizações dos botos. Compreender o quanto de ruído (i.e. de energia) está sendo emitido no ambiente, em função de atividades antrópicas, e como isto afeta as atividades vitais dos botos, como a comunicação, é fundamental para sua conservação e manejo adequado do ambiente.

Referências bibliográficas

- Andrade LG, Lima IMS, da Silva Macedo H, de Carvalho RR, Lailson-Brito J, Flach L, Azevedo AF (2015) Variation in Guiana dolphin (*Sotalia guianensis*) whistles: using a broadband recording system to analyze acoustic parameters in three areas of southeastern Brazil. *acta ethologica*, 18(1), 47-57.
- Au WWL (1980) Echolocation signals of the Atlantic bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) in open waters. In R.G. Busnel and J.F. Fish (eds): *Animal Sonar Systems*. New York: Plenum Publishing Corporation, 251-282.

- Au WWL (2000) Hearing in whales and dolphins: an overview. In Hearing by whales and dolphins (W. W. L. Au, A. N. Popper, and R. E. Fay, eds.). Springer Press, New York, pp. 1–42.
- Au WWL, Hastings MC (2008) Principles of marine bioacoustics. New York: Springer Science.
- Azevedo AF, Van Sluys M (2005) Whistles of tucuxi dolphins (*Sotalia fluviatilis*) in Brazil: comparisons among populations. *Journal of the Acoustical Society of America*, v. 117 n. 3, 1456-1464.
- Azevedo AF, Oliveira MA, Dalla Rosa L, Lailson-Brito J (2007) Characteristics of whistles from resident bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Southern Brazil. *Acoustical Society of America*, 121(5), 2978-2983.
- Azevedo, AF, Flach L, Bisi TL, Andrade LG, Dorneles PR, Lailson-Brito J (2010) Whistles emitted by Atlantic spotted dolphins (*Stenella frontalis*) in southeastern Brazil. *Journal of the Acoustical Society of America*, 127(4): 2646 - 2651.
- Baker I, O'Brien J, McHugh K, Ingram SN, Berrow S (2018) Bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) social structure in the Shannon Estuary, Ireland, is distinguished by age-and area-related associations. *Marine Mammal Science*, 34(2): 458-487.
- Bastida R, Rodríguez D, Secchi ER, da Silva V (2007) *Tursiops truncatus*. In: Mamíferos Marinos de Patagonia y Antártida, 2nd. Buenos Aires, Argentina: Vazquez Maziini.
- Bazúa-Durán C, Au WWL (2002) The whistles of Hawaiian spinner dolphins. *J. Acoust. Soc. Am.* 112, 3064–3072.
- Bazúa-Durán C, Au WWL (2004) Geographic variations in the whistles of spinner dolphins (*Stenella longirostris*) of the Main Hawaiian Islands. *Journal of the Acoustical Society of America*, 116, 3757–3769.
- Berta A, Sumich JL (1999) *Marine Mammals: Evolutionary Biology*. San Diego: Academic Press.
- Bird, A (2012) Geographic Variation in the Whistle Characteristics of Bottlenose Dolphins (*Tursiops truncatus*) between Cardigan Bay, Wales, the Shannon Estuary, Ireland, the Molene Archipelago, France and the Sado Estuary, Portugal. MS thesis, School of Ocean Sciences, Bangor University, UK.

- Bradbury JW, Vehrencamp SL (1998) *Principles of Animal Communication*. Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc.
- Bradley DL, Stern R (2008) Underwater sound and the marine mammal acoustic environment: A guide to fundamental principles. Report (U.S. Marine Mammal Commission).
- Briefer EF (2012). Vocal expression of emotions in mammals: mechanisms of production and evidence. *Journal of Zoology*, 288(1): 1-20.
- Brudzynski SM (2010) *Handbook of Mammalian Vocalization an integrative neuroscience approach*. Vol. 19. Elsevier.
- Bueno SM (2015) Análise do repertório acústico atual do grupo de golfinhos *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821) (Cetacea, Delphinidae) residentes na barra da laguna de Tramandaí, Rio Grande do Sul, Brasil. Trabalho de Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, Brasil.
- Caldwell MC, Caldwell DK (1965) Individualized whistle contours in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Nature (London)* 207, 434-435.
- Caldwell MC, Caldwell DK, Tyack PL (1990) Review of the signature-whistle hypothesis for the Atlantic bottlenose dolphin. In: S. Leatherwood & R.R. Reeves (eds) *The bottlenose dolphin*. Academic Press, San Diego, California.
- Cerchio S (1993) Geographic variation and cultural evolution in songs of humpback whales (*Megaptera novaeangliae*) in the Eastern North Pacific. Master of Science thesis, Moss Landing Marine Laboratories, San Jose State University, California.
- Cerchio S, Jacobsen JK, Norris TF (2001) Temporal and geographical variation in songs of humpback whales, *Megaptera novaeangliae*: synchronous change in Hawaiian and Mexican breeding assemblages. *Animal behaviour*, 62(2), 313-329.
- Committee on Taxonomy (2018) List of marine mammal species and subspecies. Society for Marine Mammalogy, www.marinemammalscience.org (accessed 11 Nov 2018)
- Connor RC, Wells RS, Mann J, Read AJ (2000) The bottlenose dolphin: Social relationships in a fission-fusion society. In: Mann J, Connor RC, Tyack PL, Whitehead H (eds) *Cetacean societies: Field studies of dolphins and whales*. University of Chicago Press, Chicago, IL.

- Costa APB, Rosel PE, Daura-Jorge FG, Simões-Lopes PC (2016) Offshore and coastal common bottlenose dolphins of the western South Atlantic face-to-face: What the skull and the spine can tell us. *Marine Mammal Science*, 32(4), 1433–1457.
- Dalla Rosa L (1999) Estimativa do tamanho da população de botos, *Tursiops truncatus*, do estuário da Lagoa dos Patos, RS, a partir da fotoidentificação de indivíduos com marcas naturais e da aplicação de modelos de marcação-recaptura. Tese de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande, RS, Brasil.
- Darling J (2018) Song. In: Würsig B, Thewissen JGM, Kovacs KM (eds) *Encyclopedia of marine mammals*, 3rd edition. San Diego, CA: Academic Press, 887-889.
- Díaz López B, Bernal JS (2009) Mediterranean common bottlenose dolphin's repertoire and communication use. In: *Dolphins: Anatomy, Behavior and Threats.*, edited by A. G. Pearce, and L. M. Correa (Nova Science Publishers), p. 20.
- Digby A, Towsey M, Bell BD, Teal P (2014) Temporal and environmental influences on the vocal behaviour of a nocturnal bird," *Journal of Avian Biology* 45.
- Ding W, Würsig B, Evans WE (1995) Whistles of bottlenose dolphins: comparisons among populations. *Aquatic Mammals*, 21, 65–77.
- Di Tullio JC (2009) Uso do habitat do boto, *Tursiops truncatus*, no estuário da Lagoa dos Patos e águas costeiras adjacentes, RS, Brasil. Tese de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande, RS, Brasil.
- Di Tullio JC, Fruet PF, Secchi ER (2015) Identifying critical areas to reduce bycatch of coastal common bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* in artisanal fisheries of the subtropical western South Atlantic. *Endangered Species Research*, 29, 35–50.
- dos Santos ME, Louro S, Couchinho M, Brito C (2005) Whistles of Bottlenose Dolphins *Tursiops truncatus* in the Sado Estuary, Portugal: Characteristics, Production Rates, and Long-Term Contour Stability. *Aquat. Mamm.* 31(4), 453–462.
- Duffield DA, Ridgway SH, Cornell LH (1983) Hematology distinguishes coastal and offshore forms of dolphins (*Tursiops*). *Canadian Journal of Zoology*, 61(4), 930-933.
- Duque BR (2017) Grupo misto de *Globicephala melas* e *Tursiops truncatus*: classificação e caracterização dos assobios registrados no Oceano Atlântico Sul, Brasil. Tese de mestrado, Universidade Federal de Juiz de Fora, MG.

- Englund A (2014) Acoustic behaviour, ecology and social structure of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*, Montagu 1821) in the North Atlantic.
- Fay RR, Popper AN, Webb JF (2008) Introduction to fish bioacoustics. In: Fish bioacoustics (pp. 1-15). Springer, New York, NY.
- Frankel AS (2018) Sound. In Würsig, B., Thewissen, J.G.M. and Kovacs, K.M. (eds) Encyclopedia of marine mammals, 3rd edition. San Diego, CA: Academic Press, pp. 889-901.
- Fruet PF, Secchi ER, Di Tullio JC, Kinas PG (2011) Abundance of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus* (Cetacea: Delphinidae), inhabiting the Patos Lagoon estuary, southern Brazil: implications for conservation. *Zoologia*, 28, 23–30.
- Fruet PF, Secchi ER, Daura-Jorge F, Vermeulen E, Flores PAC, Simões-Lopez PC, Genoves RC, Laporta P, Di Tullio JC, Freitas TRO, Dalla Rosa L, Valiati VH, Beheregaray LB, Möller LM (2014) Remarkably low genetic diversity and strong population structure in common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from coastal waters of the Southwestern Atlantic Ocean. *Conservation Genetics* (15): 875-895.
- Fruet PF, Daura-Jorge FG, Möller LM, Genoves RC, Secchi ER (2015) Abundance and demography of bottlenose dolphins inhabiting a subtropical estuary in the Southwestern Atlantic Ocean. *Journal of Mammalogy*, 96(2), 332–343.
- Fruet PF, Secchi ER, Di Tullio JC, Simões-Lopes PC, Daura-Jorge F, Costa APB, Vermeulen E, Flores PAC, Genoves RC, Laporta P, Beheregaray LB and Möller LM (2017) Genetic divergence between two phenotypically distinct bottlenose dolphin ecotypes suggests separate evolutionary trajectories. *Ecology and Evolution* 7, 9131–9143.
- Genoves R (2008) Padrões de associação do boto, *Tursiops truncatus*, no estuário da Lagoa dos Patos, RS, Brasil. Trabalho de conclusão de curso, Universidade Federal do Rio Grande, RS, Brasil.
- Genoves R (2013) Estrutura social do boto, *Tursiops truncatus* (Cetacea: Delphinidae), no estuário da Lagoa dos Patos e águas costeiras adjacentes, no sul do Brasil. Tese de Mestrado. Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, RS, Brasil. 67p.

- Genoves RC, Fruet PF, Di Tullio JC, Secchi ER (in press) Spatiotemporal use predicts social partitioning of bottlenose dolphins with strong home range overlap. *Ecol Evol* (00): 1–18.
- Goodall RNP, Marchesi MC, Pimper LE, Dellabianca N, Benegas LG, Torres MA, Riccialdelli, L (2011) Southernmost records of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*. *Polar Biology*, 34(7), 1085-1090.
- Gridley T, Nastasi A, Kriesell HJ, Elwen SH (2015) The acoustic repertoire of wild common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in Walvis Bay, Namibia. *Bioacoustics*, 24(2), 153-174.
- Hammond PS, Mizroch SA, Donovan GP (1990) Individual Recognition of Cetaceans: Use of Photo-identification and Other Techniques to Estimate Population Parameters. In: Report of the International Whaling Commission, Special Issue 12, Cambridge: International Whaling Commission.
- Hawkins ER, Gartside DF (2010) Whistle emissions of Indo-Pacific bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*) differ with group composition and surface behaviors. *Journal of the Acoustical Society of America*, 127(4), 2652-2663.
- Heiler J, Elwen SH, Kriesell HJ, Gridley T (2016) Changes in bottlenose dolphin whistle parameters related to vessel presence, surface behaviour and group composition. *Anim. Behav.* 117, 167–177.
- Hoffmann LS (2004) Um estudo de longa duração de um grupo costeiro de golfinhos *Tursiops truncatus* no sul do Brasil: Aspectos de sua biologia e bioacústica. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS, Brasil.
- Hoffmann LS, Ferlin E, Fruet P, Genoves R, Valdez FP, Di Tullio J, Caon, G., Freitas TR (2012) Whistles of bottlenose dolphins: group repertoires and geographic variations in Brazilian waters. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 730: 141-144.
- Ieno EN, Zuur AF (2015) A Beginner's Guide to Data Exploration and Visualisation with R. Highland Statistics, Newburgh.
- Janik VM, Dehnhardt G, Todt D (1994) Signature whistle variations in a bottlenosed dolphin, *Tursiops truncatus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 35(4), 243-248.

- Janik VM, Slater PJB (1997) Vocal learning in mammals. *Advances in the study of behavior*, 26, 59-99.
- Janik VM, Slater PJ (1998) Context-specific use suggests that bottlenose dolphin signature whistles are cohesion calls. *Animal behaviour*, 56(4), 829-838.
- Janik VM (2000) Whistle matching in wild bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Science*, 289:1355-1357.
- Janik VM (2009) Acoustic communication in delphinids. In: *Advances in the Study of Behavior* (Naguib, M. & Janik, V.M., eds). Academic Press, Burlington, 123—157.
- Janik VM, King SL, Sayigh LS, Wells RS (2013) Identifying signature whistles from recordings of groups of unrestrained bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Mar Mammal Sci* 29:1–14.
- Jones GJ, Sayigh LS (2002) Geographic variation in rates of vocal production of free-ranging bottlenose dolphins. *Marine Mammal Science*, 18(2), 374-393.
- Kaplan JD, Reiss D (2017) Whistle acoustic parameters in Atlantic spotted dolphins (*Stenella frontalis*) and Bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in two locations in the Bahamas and comparisons with other populations. *Aquatic Mammals*, 43(4), 364.
- Kjerfve B (1986) Comparative oceanography of coastal lagoons. In: D. A. Wolfe (ed.), *Estuarine variability*. Academic. 63-81.
- Krause B (2012) *The Great Animal Orchestra: Finding the Origins of Music in the World's Wild Places*. Little, Brown and Company, New York, NY.
- La Manna G, Gospić NR, Manghi M, Picciulin M, Sarà G (2017) Assessing geographical variation on whistle acoustic structure of three Mediterranean populations of common bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*). *Behaviour*, 154(5), 583-607.
- Lammers MO, Au WWL, Herzing DL (2003) The broadband social acoustic signaling behavior of spinner and spotted dolphins, *J. Acoust. Soc. Am.* 114 (3), 1629–1639.
- Laporta P, Fruet PF, Secchi ER (2016) First estimate of common bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) (Cetacea, Delphinidae) abundance off Uruguayan Atlantic coast. *Latin American Journal of Aquatic Mammals*, 11(1–2), 144–154.
- Lilly JC, Miller AM (1961) Sounds emitted by the bottlenose dolphin. *Science*, 133(3465), 1689-1693.

- Lilly JC (1962) Vocal behavior of the bottlenose dolphin. *Proceedings of the American Philosophical Society*, 106(6), 520-529.
- Lima IMS, Andrade LG, Bittencourt L, Bisi TL, Flach L, Lailson-Brito J, Azevedo AF (2016) Whistle comparison of four delphinid species in Southeastern Brazil. *J. Acoust. Soc. Am.* 139 (5).
- Luís AR, Couchinho MN, dos Santos ME (2016) Signature whistles in wild bottlenose dolphins: long-term stability and emission rates. *acta ethologica*, 19(2), 113-122.
- Luther D, Baptista L (2009) Urban noise and the cultural evolution of bird songs. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 277(1680), 469-473.
- May-Collado LJ, Wartzok D (2008) A comparison of bottlenose dolphin whistles in the Atlantic Ocean: factors promoting whistle variation. *Journal of Mammalogy*, 89(5):1229-1240.
- May-Collado LJ (2010) Changes in whistle structure of two dolphin species during interspecific associations,” *Ethology* 116, 1–10
- May-Collado LJ (2013) Guyana dolphins (*Sotalia guianensis*) from Costa Rica emit whistles that vary with surface behaviors. *Journal of the Acoustical Society of America*, 134(4), 359-365.
- McBride AF, Hebb DO (1948) Behavior of the captive bottle-nose dolphin, *Tursiops truncatus*. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 41(2), 111.
- McCowan B, Reiss D, Gubbins C (1998) Social familiarity influences whistle acoustic structure in adult female bottlenose dolphins. *Aquatic Mammals* 24:27-40.
- Montagu G (1821) Description of a Species of *Delphinus* Wich Appers To Be New. *Memoirs of the Wernerian Natural History Society* (3): 75-82.
- Milanelli, A. (2017) Repertório de assobios do boto-de-lahille *Tursiops truncatus gephyreus* (Cetartiodactyla: Delphinidae) no estuário da Lagoa dos Patos, RS, Brasil. Trabalho de conclusão do curso. Universidade Federal do Rio Grande, RS, Brasil.
- Mitani JC, Nishida T (1993) Contexts and social correlates of long-distance calling by male chimpanzees. *Anim. Behav.* 45, 735-746.
- Papale, E., Perez-Gil, M., Castrillon, J., Perez-Gil, E., Ruiz, L., Servidio, A., Tejedor, M., Giacoma, C., and Martin, V (2017) Context specificity of Atlantic spotted dolphin acoustic signals in the Canary Islands. *Ethol. Ecol. Evol.* 29(4), 311–329.

- Parks SE, Tyack PL (2005) Sound production by North Atlantic right whales (*Eubalaena glacialis*) in surface active groups. *J. Acoust. Soc. Am.* 117, 3297–3306.
- Parks SE, Clark CW, Tyack PL (2007) Short- and long-term changes in right whale calling behavior: the potential effects of noise on acoustic communication. *Journal of the Acoustical Society of America*, 122(6), 3725-3731.
- Perrin WF, Thieleking JL, Walker WA, Archer FI, Robertson KM (2011) Common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in California waters: cranial differentiation of coastal and offshore ecotypes. *Marine Mammal Science*, 27, 769–792.
- Quick NJ, Janik VM (2008) Whistle rates of wild bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*): influences of group size and behavior. *Journal of comparative psychology* (Washington, D.C.: 1983), v. 122, n. 3, p. 305–11.
- Quintana-Rizzo E, Mann DA, Wells RS (2006) Estimated communication range of social sounds used by bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *J. Acoust. Soc. Am.* 120, 1671 – 1683.
- Rasmussen MH, Miller LA (2004) *Echolocation in Bats and Dolphins*, Univ. of Chicago, Chicago, 2004, pp. 50–53.
- Raven PH, Johnson GB (2002) *Biology* 6th Ed. NY: McGraw-Hill Publishing.
- R Development Core Team (2015) *R: A language and environment for statistical computing*.
- Rendell LE, Matthews JN, Gill A, Gordon JCD, Macdonald DW (1999) Quantitative analysis of tonal calls from five odontocete species, examining interspecific and intraspecific variation. *J. Zool. Lond.* 249(4), 403–410.
- Romeu B, Cantor M, Bezamat C, Simões-Lopes PC, Daura-Jorge FG (2017) Bottlenose dolphins that forage with artisanal fishermen whistle differently. *Ethology*, 123(12), 906-915.
- Rossing TD (2007) *Handbook of Acoustics*. New York: Springer, 1182p.
- Samarra FIP, Deecke VB, Simonis, AE, Miller PJO (2015) Geographic variation in the time-frequency characteristics of highfrequency whistles produced by killer whales (*Orcinus orca*). *Mar. Mam. Sci.* 31, 688–706.

- Sayigh LS, Janik VM (2018) Signature whistles. In: Würsig, B., Thewissen, J.G.M. and Kovacs, K.M. (eds) Encyclopedia of marine mammals, 3rd edition. San Diego, CA: Academic Press, 887-889.
- Shane SH (1990) Behavior and ecology of the bottlenose dolphin at Sanibel Island, Florida. In S. Leatherwood, & R. R. Reeves (Eds.), The bottlenose dolphin (2nd ed., pp. 245–265). San Diego, CA: Academic Press.
- Stimpert AK, derRuiter E, Falcone EA, Joseph JE, Douglas AB, Moretti DJ, Friedlaender AS, Calambokidis J, Gailey G, Tyack PL, Goldbogen JA (2015) Sound production and associated behavior of tagged fin whales (*Balaenoptera physalus*) in the Southern California Bight. *Animal Biotelemetry* 3, 12.
- Tellechea JS, Bouvier D, Cambon-Tait D, Norbis W (2014) Passive acoustic monitoring of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) on the Uruguayan coast: Vocal characteristics and seasonal cycles. *Aquatic Mammals* 40(2): 173–184.
- Tyack PL, Clark CW (2000) Acoustic communication in whales and dolphins. In: *Hearing by Whales and Dolphins*, edited by W. W. L. Au, A. N. Popper, and R. F. Fay (Springer Verlag, New York), pp. 156–224.
- Watwood, SL, Owen EC, Tyack PL, Wells RS (2005) Signature whistle use by temporarily restrained and free-swimming bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*. *Animal Behaviour*, 69(6), 1373-1386.
- Wartzok D, Ketten DR (1999) Marine mammal sensory systems. In: Reynolds JEI, Rommel S (eds) *Biology of marine mammals*. Smithsonian Institution Press, Washington DC, p 117–175.
- Wells RS, Scott MD (2018) Bottlenose Dolphin, *Tursiops Truncatus*, Common Bottlenose Dolphin. In: Würsig, B., Thewissen, J.G.M. and Kovacs, K.M. (eds) *Encyclopedia of marine mammals*, 3rd edition. San Diego, CA: Academic Press, 118-125.
- Whitehead H, Rendell L (2015) *The cultural lives of whales and dolphins* (1st ed.). Chicago, IL: University of Chicago Press.
- Wickert JC, von Eye SM, Oliveira LR, Moreno IB (2016) Revalidation of *Tursiops gephyreus* Lahille, 1908 (Cetartiodactyla: Delphinidae) from the southwestern Atlantic Ocean. *Journal of Mammalogy*, 97(6), 1728-1737.

Wood SN (2017) Generalized Additive Models: An Introduction with R. Second Edition (CRC Press).

Würsig BG, Thewissen JGM, Kovacs KM (2018) Encyclopedia of marine mammals. 3rd ed. London (UK): Academic Press.

Zuur AF, Ieno EN, Walker NJ, Saveliev AA, Smith GM (2009) Mixed effects models and extensions in ecology with R. Springer, New York, NY.

Zuur AF, Ieno EN, Elphick CS (2010) A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods Ecology and Evolution*, 1, 3–14.

ANEXO 1*

* article submitted to the Journal of the Acoustical Society of America (JASA)

Microgeographic variation in the whistle repertoire of Lahille's bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus gephyreus*) in southern Brazil

Rihel Venuto^{1,2,3,4,*}, Pedro Fruet^{1,3,4,5}, Alexandre Azevedo⁶, Luciano Dalla Rosa¹

¹ *Laboratório de Ecologia e Conservação da Megafauna Marinha (ECOMEGA),
Instituto de Oceanografia, Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Av. Itália
km8 s/n Rio Grande, RS 96203000, Brazil*

² *Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Biológica, FURG, Rio Grande, RS,
Brazil*

³ *Museu Oceanográfico “Prof. Eliézer de C. Rios” – FURG*

⁴ *KAOSA, Rio Grande, RS, Brazil*

⁵ *Centro Nacional de Pesquisa e Conservação de Mamíferos Aquáticos ICMBio/CMA*

⁶ *Laboratório de Mamíferos Aquáticos e Bioindicadores (MAQUA), Universidade do
Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Brazil*

*Corresponding author

E-mail address: rihelvenuto@gmail.com (R. Venuto)

Abstract

Our main objective was to assess microgeographic variations in whistle emissions from three social units of Lahille's bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus gephyreus*). These units partially overlap in space and time at the Patos Lagoon Estuary and adjacent coastline, in southern Brazil. We also assessed whistle variability as a function of biotic and abiotic factors. Acoustic recordings were obtained from January 2017 to January 2018. Of 1926 whistles selected following quality criteria, only whistles from photo-identified groups with social unit determination were used to assess variations in social unit repertoire, totaling 193 whistles. Generalized linear models indicated that many whistle parameters differed among the three social units. Frequency range was important for distinguishing the three social units, whereas duration and number of inflection points differed only between the northern and estuarine units. Generalized additive models showed that biotic and abiotic factors had significant relationships with some acoustic parameters. During traveling, dolphins generally emitted lower frequencies in comparison to other behavioral states. Whistles recorded along the north and south coastlines showed significantly lower frequencies compared to the estuarine region. Our results indicate microgeographic variations in the whistles of Lahille's bottlenose dolphins, highlighting the importance of bioacoustics for distinguishing populations of this subspecies.

Key words: metapopulation, social unit, intraspecific variation, vocalizations, acoustics

Introduction

The bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) is a cosmopolitan species inhabiting coastal and offshore waters in the tropics and subtropics (Wells and Scott, 2018). As one of the most social cetaceans species, bottlenose dolphins display different levels of social bonds with conspecifics or even different species, where knowledge and culture are developed through inter-individual communication. (Whitehead *et al.*, 1998; Connor *et al.*, 2000; Rendell and Whitehead, 2001; Janik, 2009; Whitehead and Rendell, 2015). In the Southwestern Atlantic Ocean (SWAO), inshore/coastal and offshore ecotypes of bottlenose dolphins have been reported (Bastida *et al.*, 2007; Goodall *et al.*, 2011; Fruet *et al.*, 2014; Di Tullio *et al.*, 2015), with the coastal ecotype restricted to a narrow stretch along the coastline of southern Brazil, Uruguay and Argentina (Fruet *et al.*, 2014; Costa *et al.*, 2016; Wickert *et al.*, 2016; Fruet *et al.*, 2017). These coastal dolphins differ from the offshore ecotype in their genetic profiles, external morphology, coloration pattern and skull and spine characteristics (Barreto, 2000; Costa *et al.*, 2016; Wickert *et al.*, 2016; Fruet *et al.*, 2017). Such divergences between ecotypes lead to a new taxonomic classification for these coastal dolphins, which are now recognized as the sub-species Lahille's bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus gephyreus*) (Costa *et al.*, 2016; Committee on Taxonomy, 2018).

The coastal populations of the Lahille's bottlenose dolphin in the SWAO typically present low genetic diversity and can be divided into two main populations or Evolutionary Significant Units (ESUs) (Fruet *et al.*, 2014). One population is spread along the coast of Argentina; the other is distributed from the southern limit of the Uruguayan coast (34°55'S) to the southern Brazilian coast and is composed of different communities with moderate levels of connectivity which are suggestive of a larger

metapopulation, referred to as the southern Brazil-Uruguay (SB-U) ESU (Fruet *et al.*, 2014).

Located at the southern portion of the Brazilian coast, the mouth of the Patos Lagoon Estuary (PLE) and adjacent coastline represent an important area for three communities of the SB-U metapopulation (Fruet *et al.*, 2014; Genoves *et al.*, *in press*). Social network analyses suggested that the main mechanisms shaping these communities are the use of different environments and the individual association patterns (Genoves *et al.*, *in press*). The authors investigated these associations at the individual level using standard photo-identification protocols (Hammond *et al.*, 1990), where dolphins are individually identified using long-lasting marks on their dorsal fin. Therefore, such differences led to the proposition of three social units for the PLE region (Genoves *et al.*, *in press*). One of the units is composed of resident dolphins that regularly use the estuary mouth and are strongly associated with the PLE region, totaling a population of about 83 dolphins (95% CI=78 to 88) (Dalla Rosa, 1999). This social unit has been studied intermittently since 1974, and recent estimates suggest its abundance has been relatively stable (Fruet *et al.*, 2015). Associated with the north and south adjacent coastline, the other two social units are estimated at about 19 and 21 individuals, respectively (Genoves *et al.*, *in press*). Unlike the PLE resident dolphins, some individuals of the southern unity have been identified as Uruguayan dolphins (Laporta *et al.*, 2016; Genoves *et al.*, *in press*).

Bottlenose dolphins communicate using a variety of acoustic emissions, broadly classified into whistles and burst-pulse sounds (Janik, 2009). When cultural differences among dolphin communities emerge as a consequence of specific social bonds or ecological associations, distinct acoustic repertoires may arise even in the presence of

overlapping home ranges (Ding *et al.*, 1995; Morisaka *et al.*, 2005a; Whitehead, 2008a; May-Collado and Wartzok, 2008; Janik, 2009; Whitehead and Rendell, 2015). Such differences in vocalizations among dolphin communities that share some neighboring areas result in microgeographic variations (Conner, 1982; Bazúa-Durán and Au, 2004; Hawkins, 2010) that provide valuable insights into a variety of ecological, biological and cultural aspects of cetaceans, and can serve as a tool to differentiate dolphin stocks (Whitehead *et al.*, 1998; Whitehead and Rendell, 2015).

In the SWAO region, few studies have investigated acoustic parameters of coastal bottlenose dolphins (e.g. Azevedo *et al.*, 2007; Tellechea *et al.*, 2014; Lima *et al.*, 2016; Romeu *et al.*, 2017). For the PLE region, in particular, some whistle characteristics have been described only for the estuarine social unit (Azevedo *et al.*, 2007). Our goal was to assess microgeographic variations in whistle emissions among three social units of the Lahille's bottlenose dolphin in the southern Brazil. In addition, we aimed to investigate whistle variability as function of group size and composition (calf presence), surface behavior, location of recordings and sea surface temperature (SST) for the first time for this sub-species. By identifying key factors that distinguish and characterize the Lahille's bottlenose dolphin repertoire, we provide important insights into population discreteness.

Methods

Study area

The study was conducted in a 90 km² area along the southern Brazilian coast, at the Patos Lagoon estuary (PLE) and in the adjacent coastline (~32°W, ~52°S) (Fig. 1). Located about 200 km from Uruguay, this region is seasonally influenced by cold waters from the Falklands Current in the winter and by warm waters from the Brazil Current in

the summer (Legeckis and Gordon, 1982). The Patos Lagoon is the largest choked lagoon in the world (Kjerfve, 1986), and its estuary represents an important source of fluvial water discharge to the SWAO (Lutz *et al.*, 2018). Estuaries are among the most productive of marine ecosystems, supporting a diverse fauna and flora (Nixon *et al.*, 1986; Odebrecht *et al.*, 2010). On the PLE and adjacent coastline, meteorological and oceanographic factors (e.g. storms, water with high concentration of nutrients from the Falklands Current and Río de La Plata) are known to promote increased nutrient availability in the region, configuring a highly productive area (Abreu *et al.*, 1995; Müller and Casting, 1999; Lutz *et al.*, 2018). The PLE mouth between and around the jetties constitutes an important habitat for vital activities of Lahille's bottlenose dolphin in southern Brazil (Mattos *et al.*, 2007).

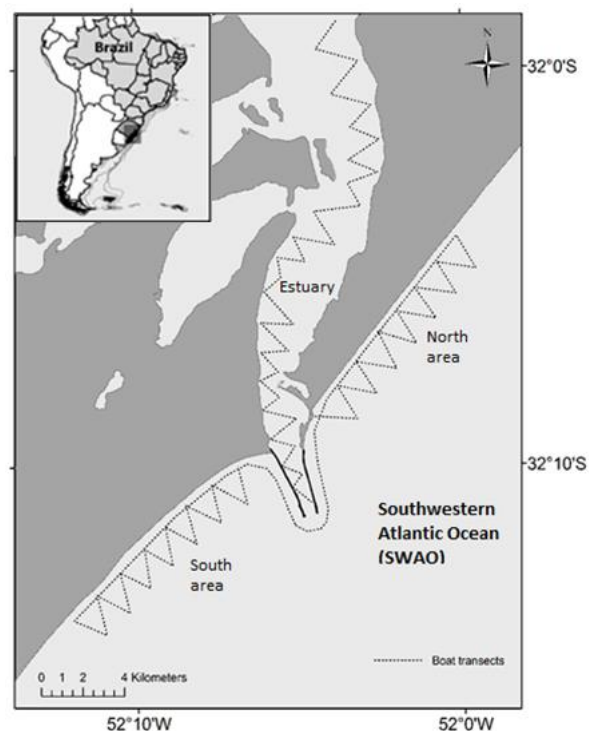


Figure 1. Map of the study area off the southern Brazilian coast. The region of the Patos Lagoon Estuary and adjacent coast were analyzed through transects along the estuary and adjacent coastline, and classified into three sub-areas.

Surveys and data collection

Field work was conducted onboard a 5m FlexBoat, under Beaufort conditions ≤ 3 , from January 2017 to January 2018. Survey design generally followed a zig-zag pattern along the study area in search of groups of bottlenose dolphins. Individuals sighted were counted and photo-identified using a Nikon D7200 camera with 300mm or 70-200mm zoom lens, following methods described in Dalla Rosa (1999).

Underwater acoustic recordings were made after photo-identification had ceased, with the engine off and setting the hydrophone at a depth of 3-4m and at a distance of less than 200m from the dolphin group. If they moved farther away, we stopped the acoustic recording, repositioned the boat and began recording another track closer to the dolphins. Acoustic data were collected using a single element hydrophone HTI-96-MIN (*High Tech Inc.*, -165dB re: 1V/ μ Pa) with a frequency response between 5 Hz and 30 kHz. This system was connected to a Tascam DR-690MKII recorder, with 96kHz of sampling rate. Data on surface behavioral activities were obtained during recordings and classified as proposed by Shane (1990). Therefore, we were able to relate individual photo-identification data and group behavioral states to each group's acoustic emissions. Sea surface temperature was recorded for each group, at the beginning of the photo-id process.

Data Analysis

Photo-identification

Dolphins were individually identified using standard photo-identification protocols through the analysis of long-lasting marks on their dorsal fin (Hammond et al. 1990). During this process, individuals were classified into one of the three social units of Lahille's bottlenose dolphins from the PLE, according to Genoves *et al.* (*in press*):

estuarine, northern and southern units. This approach allowed us to assess each social unity's acoustic repertoire. Some groups consisted of mixed social units, or of individuals that could not be assigned to any of the units.

Acoustic parameters

Whistle parameters were measured using spectrogram display (Hanning window, overlap 50%, FFT 512) on Raven Pro 1.5 (Cornell Laboratory of Ornithology, New York). Whistles were treated as narrow-band tonal signals longer than 0.1s in duration and were only considered in the analyses if not interrupted by more than 0.03s gaps, nor affected by overlapping vocalizations or noise that could mask parameter measurements (Lilly and Miller, 1961; Esch *et al.*, 2009; Janik, *et al.* 2013). As the sequential whistles could indicate signature vocalizations, our data were classified also based on its sequential emission property, separated into classes of sequential whistles (S), first sequential (FS) and non-sequential (NS). Sequential whistles were considered as narrow-band tonal signals with the same contour, emitted in a gap ≤ 10 s (Janik *et al.*, 2013). Thus, whistles of the same type occurring within this gap were assumed to be part of the same set of sequential whistles, and those emissions that surpassed this interval were considered a new sequential group of whistles.

Each whistle contour was identified and classified into five shape types of frequency modulation: ascendant (AC), ascendant-descendant (AC-DC), descendant (DC), descendant-ascendant (DC-AC), constant (CONST) and multi (MULTI) (Azevedo *et al.*, 2007). Inflection points were defined as a variation greater than 1kHz in the whistle contour, changing from ascending to descending or *vice-versa*. Thus, CONST whistles had a variation less than 1 kHz, AC-DC and DC-AC types had just one inflection point,

and MULTI whistles contained more than one inflection point. Whistle emission rate was estimated as the number of whistles emitted per record time, divided by the number of individuals in the group.

We measured twelve acoustic parameters of whistles: duration, number of inflection points, mean frequency, start frequency, end frequency, minimum frequency, maximum frequency, frequency range (maximum frequency — minimum frequency), center frequency, peak frequency, frequency at 1/4 of duration, and frequency at 3/4 of duration. We estimated the mean frequency as an average of start, end, maximum and minimum frequencies. The number of inflection points was counted visually and the minimum, maximum, start and end frequencies were measured manually in Raven. All frequency parameters were measured in kilohertz (kHz), and the duration in milliseconds (ms).

Statistical modeling

Exploratory data analysis was performed to identify outliers, collinearity and other potential problems in the dataset (e.g. Zuur *et al.*, 2010). In order to assess representative repertoires from each social unit, we used data only from photo-identified groups of estuarine, northern and southern dolphins. Also, we selected only FS and NS whistles to avoid potential biases from signature whistles which, as reported elsewhere (Cook *et al.*, 2004, Watwood *et al.*, 2005), can represent nearly 50% of whistles recorded in free-ranging dolphins. For each acoustic parameter, we calculated the mean, standard deviation, median, maximum and minimum values. A chi-square test was used to compare the frequency of whistles in each contour category, between the three social

units (X^2 ; $\alpha = 0.05$), where larger the X^2 value, greater the difference between sites (e.g. Bazúa-Duran, 2004).

Generalized linear models (GLMs) (e.g. Zuur *et al.*, 2009) were used to investigate if the mean values of each whistle parameter differed among social units. Except for the number of inflection points, all others parameters consisted of continuous response variables and were modeled with a Gamma error distribution and log-link function. The number of inflection points was modeled as a discrete variable with a quasi-Poisson error distribution and logarithmic link function. The social units were included as categorical covariates in each model.

Generalized additive models (GAMs) were fitted to assess the influence of the following factors: group size, calf presence (CP, CA), surface behavior (F, T, T-F and S), locality (estuary, north and south) and sea surface temperature (SST, expressed in Celsius degrees) on each of the measured whistle parameters, and also on whistle emission rate. Similar to the GLMs, we modeled the number of inflection points with a quasi-Poisson and the other acoustic parameters and whistle emission rate with a Gamma error distribution and logarithmic link function. Group size and SST were included as smooth terms with the basis dimensional parameter (k) set to 4, to restrain the undulations of the smoothing functions (e.g. Wood, 2017) and thus obtain more ecologically defensible functional relationships. All other variables were included as categorical explanatory variables.

All statistical procedures were performed in R (The R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, <http://www.r-project.org>) through the RStudio interface (version 3.5.1). The GAMs were fitted using the R package ‘mgcv’ (Wood, 2017). Model

selection was based on *Akaike Information Criterion* (AIC), explained deviance, and a visual examination of residual plots, and followed a backfitting procedure (see Zuur *et al.*, 2009; Wood, 2017).

Results

Acoustic recordings were acquired during 22 field surveys on the PLE and adjacent areas, totalizing 18h and 54min of recordings from 64 group encounters. A total of 5304 whistles were recorded, of which 1926 presented a good signal-to-noise ratio and were, therefore, considered of high quality for further analysis. Of these, 1109 (57.6%) were represented by sequential whistles (FS and S), and 193 (10%) were considered adequate for analyses on the social units, as they included only groups with known individuals and only non-sequential and first sequential whistles. This data subset totaled 127 whistles from the estuarine, 36 from the northern and 30 from the southern social units (Table 1). The estuarine social unit presented more types of sequential whistles in comparison to the coastal units. Still, unique stereotyped whistles were also identified for both southern and northern social units (Table 1).

Table 1. Field surveys effort for each social unit of Lahille's bottlenose dolphin in southern Brazil.

	Social units		
	southern	northern	estuarine
Groups recorded	4	4	37
Duration of acoustic recordings (min)	82.25	85.13	467.03
Good quality whistles	93	49	1031
Total whistles analized per social unit	30	36	127
Sequential whistles types	7	4	60
Unique sequential whistles	2	1	47
Number of photo-identified dolphins	17	14	43

Whistle contour frequencies for each of the six types of frequency modulation varied significantly among social units (Table 2). In particular, southern dolphins demonstrated to have 40% of descendant-ascendant whistles, and both multi and ascendant-descendant represented 23.33% of the whistle shapes. Interestingly, northern ones showed 38.89% of the ascendant type whistles and a distinct expression of 16.67% for constant vocalizations. The estuarine dolphins demonstrated greater percentage of shapes for the multi and ascendant-descendant types, represented by 28.35% and 25.20%, respectively.

Table 2. Chi² test (X²) for contour frequency comparisons among social units and their respective *p* value.

Social units	Whistle contour category						Chi ² test		
	Ascendant	Ascendant-descendant	Descendant	Descendant-ascendant	Multi	Constant	Total number	<i>p</i> value	X ²
Southern	3	7	1	12	7	0	30	<i>p</i> < 0.001	43.39
Northern	14	4	4	5	3	6	36		
Estuarine	18	32	16	23	36	2	127		
Total	35	43	22	40	46	8	193	-	-

Descriptive statistics for all measured acoustic parameters of whistles from the three social units, as well as for all whistles combined (including FS and S, and groups with non-identified individuals and with dolphins from distinct social units) are detailed in Table 3. Interestingly, the highest value of maximum frequency for estuarine dolphins surpassed those for the coastal units by more than 5 kHz (22.24 kHz) (Table 3), although their mean values were not so discrepant. Whistles with more than one inflection represented 29% of the whole data (n=1926), and thirteen vocalizations had more than ten inflection points, during T, F and T_F surface behaviors. Of all acoustic parameters, the number of inflection points and whistle duration expressed the highest coefficients of variation.

Table 3. Descriptive statistics for acoustic parameters of Lahille's bottlenose dolphin whistles in southern Brazil, for southern, northern and estuarine social units (n=30; n=36 and n=127, respectively) and the overall whistles considered as good quality (n=1926). Values as they are expressed: mean ($\pm$ S.D.); median (minimum and maximum values) and the coefficient of variation in percentage. The frequency variables were measured in kHz and the duration in ms.

Whistle parameters	Social units			Overall
	Southern	Northern	Estuarine	
Initial frequency	10.13 $\pm$ 3.10	7.12 $\pm$ 2.96	7.83 $\pm$ 3.69	8.27 $\pm$ 3.98
	10.40 (4.47-14.69)	5.95 (3.73-15.75)	6.98 (2.10-20.87)	6.99 (1.04-21.11)
	31%	42%	47%	48%
End frequency	6.70 $\pm$ 2.77	8.89 $\pm$ 4.13	7.60 $\pm$ 4.06	6.9 $\pm$ 4.08
	6.60 (2.35-13.88)	8.26 (1.88-16.66)	6.67 (1.88-21.56)	5.24(0.67-22.2)
	41%	46%	53%	59%
Minimum frequency	3.75 $\pm$ 0.71	5.50 $\pm$ 2.20	4.77 $\pm$ 2.03	4.28 $\pm$ 1.49
	3.40 (2.35-4.98)	5.42 (1.90-14.84)	4.36 (1.79-14.18)	3.71 (1.04-14.84)
	19%	40%	43%	35%
Maximum frequency	13.18 $\pm$ 1.51	11.00 $\pm$ 3.25	12.34 $\pm$ 3.73	12.25 $\pm$ 3.81
	13.10 (10.02-15.92)	11.77 (4.66-16.66)	12.61 (4.75-22.25)	12.77 (3.94-22.25)
	11%	30%	30%	31%
Frequency range	9.43 $\pm$ 1.64	5.50 $\pm$ 2.70	7.57 $\pm$ 4.07	7.98 $\pm$ 3.74
	9.81 (5.13-11.43)	5.86 (0.60-9.77)	7.38 (0.79-19.03)	8.16 (0.54-19.03)
	17%	49%	54%	47%
Center frequency	7.57 $\pm$ 2.11	7.53 $\pm$ 2.34	7.21 $\pm$ 2.43	6.84 $\pm$ 2.32
	6.94 (4.88-12.56)	7.50 (3.38-15.38)	6.94 (3.38-16.78)	6.75 (1.88-16.78)
	28%	31%	34%	34%
Peak frequency	8.63 $\pm$ 2.83	7.63 $\pm$ 2.84	6.82 $\pm$ 2.69	6.75 $\pm$ 2.89
	7.04 (4.88-14.63)	6.99 (2.25-15.19)	6.28 (3.00-16.59)	6.38 (1.5-18.75)
	33%	37%	39%	43%
Frequency at ¼ of duration	5.99 $\pm$ 1.35	6.83 $\pm$ 2.30	6.13 $\pm$ 2.20	5.71 $\pm$ 1.89
	5.63 (3.56-9.00)	6.67 (2.63-15.19)	5.81 (3-16.13)	5.44 (1.69-16.13)
	22%	34%	36%	33%
Frequency at ¾ of duration	9.17 $\pm$ 2.22	8.56 $\pm$ 2.73	8.82 $\pm$ 2.80	8.46 $\pm$ 2.82
	9.10 (6.00-13.69)	8.68 (3.94-15.56)	8.81 (3.56-18.00)	8.44 (2.63-18)
	24%	32%	32%	33%
Mean frequency	8.30 $\pm$ 0.88	7.90 $\pm$ 2.57	8.51 $\pm$ 2.41	7.9 $\pm$ 2.2
	8.35 (6.45-9.94)	7.64 (4.10-15.67)	8.63 (3.72-17.87)	7.95 (2.78-17.87)
	11%	33%	28%	29%
Duration	0.59 $\pm$ 0.72	0.41 $\pm$ 0.36	0.79 $\pm$ 0.47	0.69 $\pm$ 0.42
	0.38 (0.22-3.38)	0.27 (0.05-1.43)	0.74 (0.16-4.27)	0.59 (0.05-4.27)
	121%	89%	60%	61%
Number of inflection points	1.93 $\pm$ 3.29	0.42 $\pm$ 0.65	1.30 $\pm$ 1.35	1.31 $\pm$ 1.78
	1 (0-16)	0 (0-2)	1 (0-6)	0 (0-16)
	170%	155%	104%	136%

Results of the generalized linear models used to investigate differences in the acoustic parameters among the three social units are shown in Table 4. The intercept is an estimate of the estuarine unit as the reference category. Most whistle parameters varied significantly across social units. The model for frequency range demonstrated significant p values for both coastal units, with the southern unit showing higher ($p < 0.05$) and the northern unit lower ($p < 0.001$) mean values than the estuarine unit. Initial, peak and minimum frequencies were significantly different (all $p < 0.01$) only between estuarine

and southern units, with the southern unit presenting higher mean values for the first two parameters and lower minimum frequencies. Maximum frequency ($p < 0.05$), whistle duration ($p < 0.001$) and the number of inflection points ($p < 0.01$) differed only between northern and estuarine units, with the former having all values lower than the latter.

Table 4. Results of the generalized linear models (GLMs) with estimates and p values of coefficients for each of the nine acoustic parameters used as response variables in the models in relation to the three social units. The intercept refers to the estuary unit as the reference category.

Whistle parameter	Social Units					
	Intercept		Southern		Northern	
	Estimate	p	Estimate	p	Estimate	p
Initial Frequency	2.05862	***	0.25659	**	-0.9571	0.25
End Frequency	2.02743	***	-0.12592	0.221	0.15737	0.101
Minimum Frequency	1.56121	***	-0.23945	**	0.14455	.
Maximum Frequency	2.51267	***	0.06596	0.248	-0.11424	*
Frequency Range	2.02459	***	0.21924	*	-0.31989	***
Center Frequency	1.97624	***	0.04804	0.466	0.04258	0.487
Peak Frequency	1.9194	***	0.2355	**	0.11251	0.12
Duration	-0.23702	***	-0.2861	.	-0.65323	***
Inflection point	0.2618	*	0.3975	.	-1.1372	**

Where *** = $p < 0.001$; ** = $p < 0.01$; * = $p < 0.05$ and . = $p < 0.1$

Results of the generalized additive models for nine whistle parameters and emission rate are expressed in Table 5. No collinearity was detected between the explanatory variables. Here we used the complete data set of 1926 whistles from 64 dolphin groups to model whistle parameters as a function of biotic factors. The partial effects of the linear terms and the estimated smooth functions are presented separately for each selected explanatory variable and combining all models together to give an idea of how they varied for each parameter (Fig. 2, 3, 4, 5 and 6). The intercept represents the reference categories of the categorical explanatory variables (i.e. feeding, calf absence and estuary region). In general, the deviance explained by the models was relatively low, suggesting that other important covariates that would help to explain variability in whistle

parameters might be missing from the models. The model for the emission rate presented the highest explained deviance, of 30%. Group size was the only significant variable for this model, but the categorical variable location was also kept improving model fit (i.e., lower AIC and better distribution of residuals).

Surface behavior showed significant relationships for most whistle parameters, except for the number of inflection points and emission rate (Table 5, Fig. 2). Whistles emitted during traveling presented lower values than feeding for minimum, final, maximum, center and peak frequencies (all $p < 0.001$). Whistles recorded during travel-feeding (T_F) had significantly lower values than feeding for all frequency parameters and duration. Socializing was significantly different from feeding for initial, final and minimum frequencies, with lower initial frequency and higher minimum and final frequencies. Undefined surface behavior was significant for initial and final frequencies, and whistle duration (Table 5, Fig. 2).

Whistle duration and number of inflection points decreased on average when calves were present, whereas minimum and maximum frequencies were on average higher in the presence of calves (Table 5, Fig. 3). In general, whistles recorded along the coastline, in the north and south localities (not to be confused with the social units) showed significantly lower frequencies in comparison to the estuarine region, except for center frequency and the number of inflection points. In particular, the number of inflections was significantly higher for whistles recorded in the southern adjacent area in relation to the estuary.

The smooth terms group size and SST also showed significant relationships across most acoustic parameters (Table 5). Initial frequency tended to decrease with increasing

group size, whereas the number of inflection points and peak and center frequencies increased with group size (Fig. 5). Minimum frequency had its lowest values around 15 to 20 individuals, and whistle duration peaked around 8 individuals (Fig. 5). Emission rates were higher at smaller group sizes, suggesting that as the number of individuals in the group increase, the number of whistles emitted per individual tend to decrease (Fig. 5). Regarding SST, all models with this variable selected indicate that acoustic parameters tended to decrease at initial temperatures reaching lowest values between 16 and 18 degrees Celsius, followed by an increasing tendency and peaking around 22°C (Fig. 6).

Table 5. Summary of the generalized additive models results, where the explanatory variables used for each model are identified as factors or smooth functions (S) along with their estimated degrees of freedom in parentheses. Approximate p -value significance and estimates of coefficients are as follows: dashes represent variables that were not selected in the final model. Percent deviance explained and adjusted R^2 are also expressed for all models.

Acoustic variable	Explanatory variables										% Explained deviance	R^2 adjusted
	intercept	Surface behavioral states				calf_ presence	Local		group_ size	SST		
		T	TF	S	IND		north	south				
Initial frequency	*** 2.371	*** 0.031	*** 0.169	*** 0.263	* 0.099	-	*** -0.195	*** -0.168	* S (1.7)	*** S (2.9)	12.8	0.128
End frequency	*** 1.968	*** 0.293	* 0.091	*** 0.386	* 0.12	-	-	-	-	*** S (2.9)	10.4	0.103
Minimum frequency	*** 1.616	*** 0.286	*** 0.124	* 0.13	* 0.02	*	*** -0.098	*	*	*** S (3)	13.7	0.114
Maximum frequency	*** 2.648	*** 0.111	*** 0.137	*** 0.027	* 0.021	*	*** -0.129	** -0.068	-	*** S (3)	9.18	0.102
Frequency range	*** 2.219	*** -0.01	*** 0.126	*** 0.055	* 0.013	-	*** -0.147	.	-	*** S (2.9)	4.35	0.055
Center frequency	*** 1.988	*** 0.188	*** 0.145	*** 0.081	* 0.017	-	*** 0.019	** 0.074	*	*** S (3)	11.8	0.112
Peak frequency	*** 2.042	*** 0.181	*** 0.212	*** 0.037	* 0.049	-	-	-	*** S (2.9)	*** S (2.9)	8.57	0.074
Duration	-0.006	0.014	0.088	0.076	0.457	-0.088	-0.275	-0.224	S (2.9)	S (2.9)	8.48	0.067
Inflection points	.	-	-	-	-	***	***	***	***	***	8.76	0.062
Emission rate	*** -1.358	-	-	-	-	-	0.547	-0.072	*** S (3)	-	30	0.036

Where *** = $p < 0.001$; ** = $p < 0.01$; * = $p < 0.05$ and . = $p < 0.1$

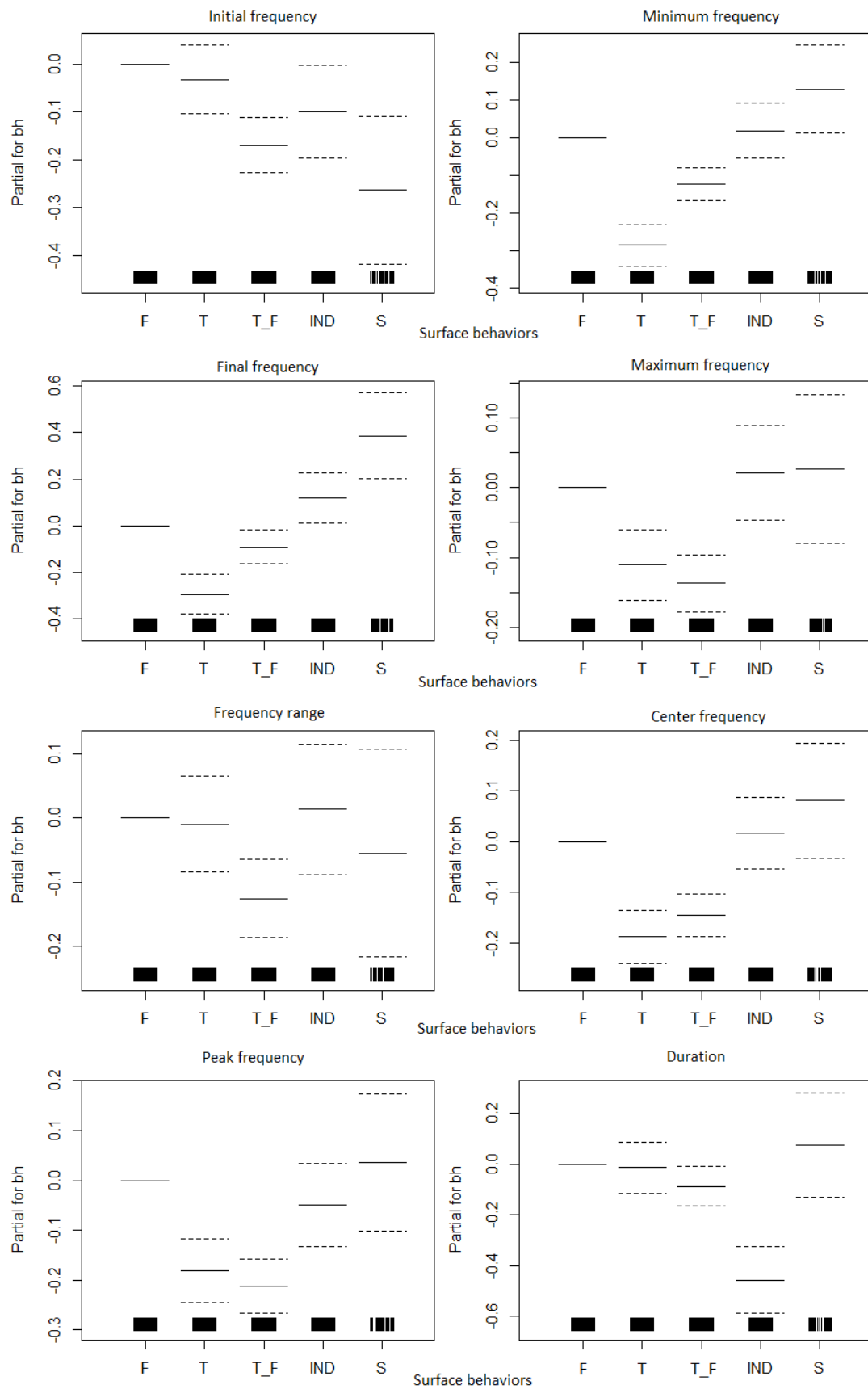


Figure 2. Partial effects of the explanatory variable surface behavioral states from each of the selected generalized additive models (GAMs) fitted to Lahille's bottlenose dolphin whistle parameters.

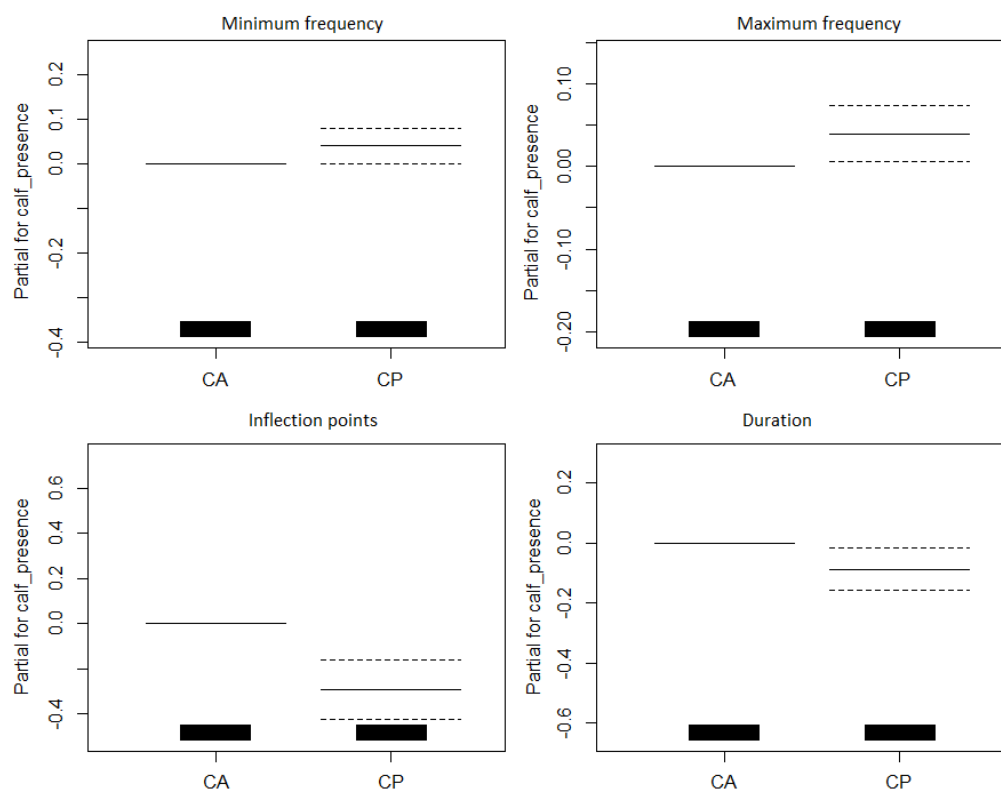


Figure 3. Partial effects of the explanatory variable calf presence from each of the selected generalized additive models (GAMs) fitted to Lahille's bottlenose dolphin whistle parameters.

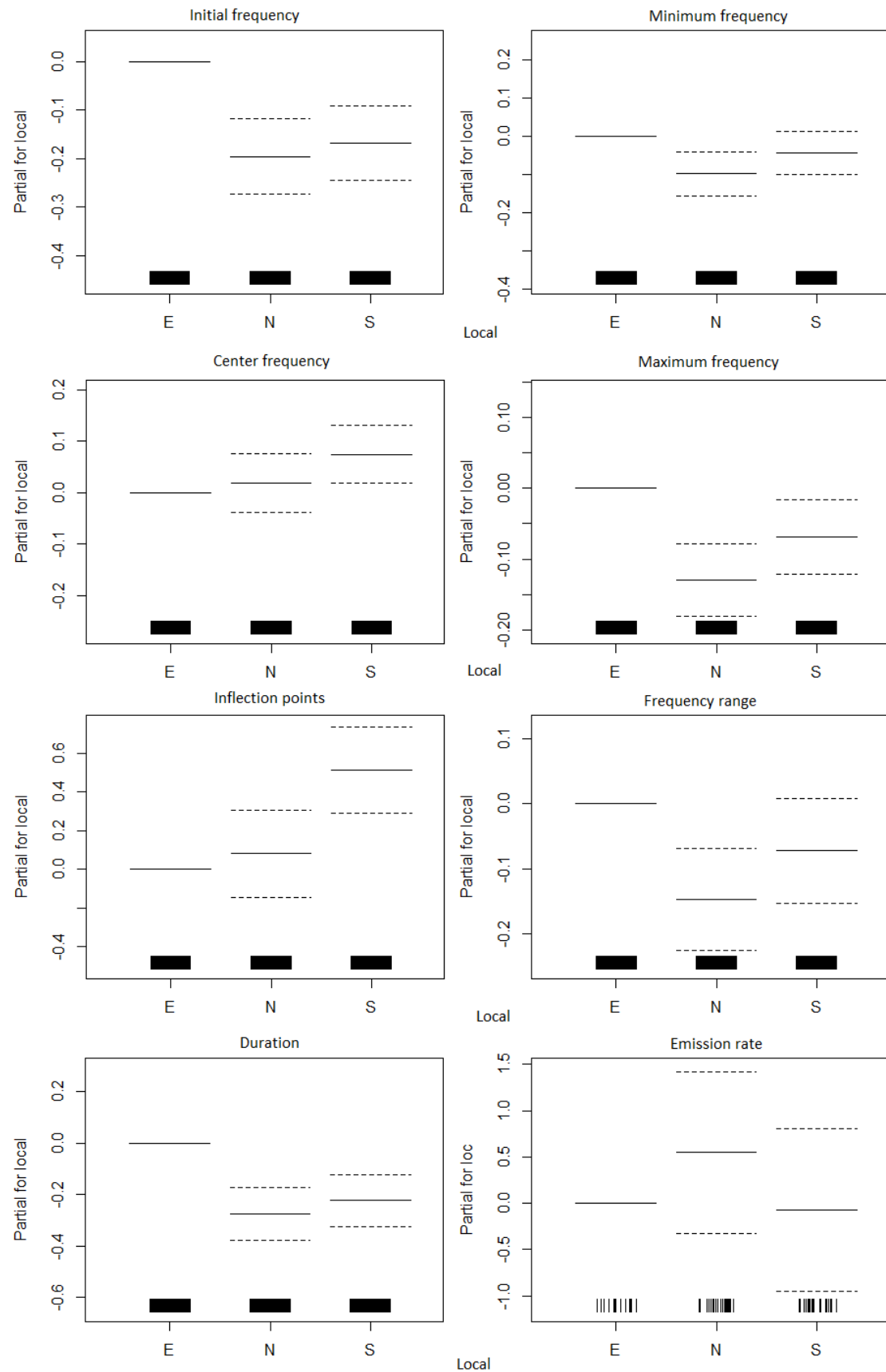


Figure 4. Partial effects of the explanatory variable locality from each of the selected generalized additive models (GAMs) fitted to Lahille's bottlenose dolphin whistle parameters.

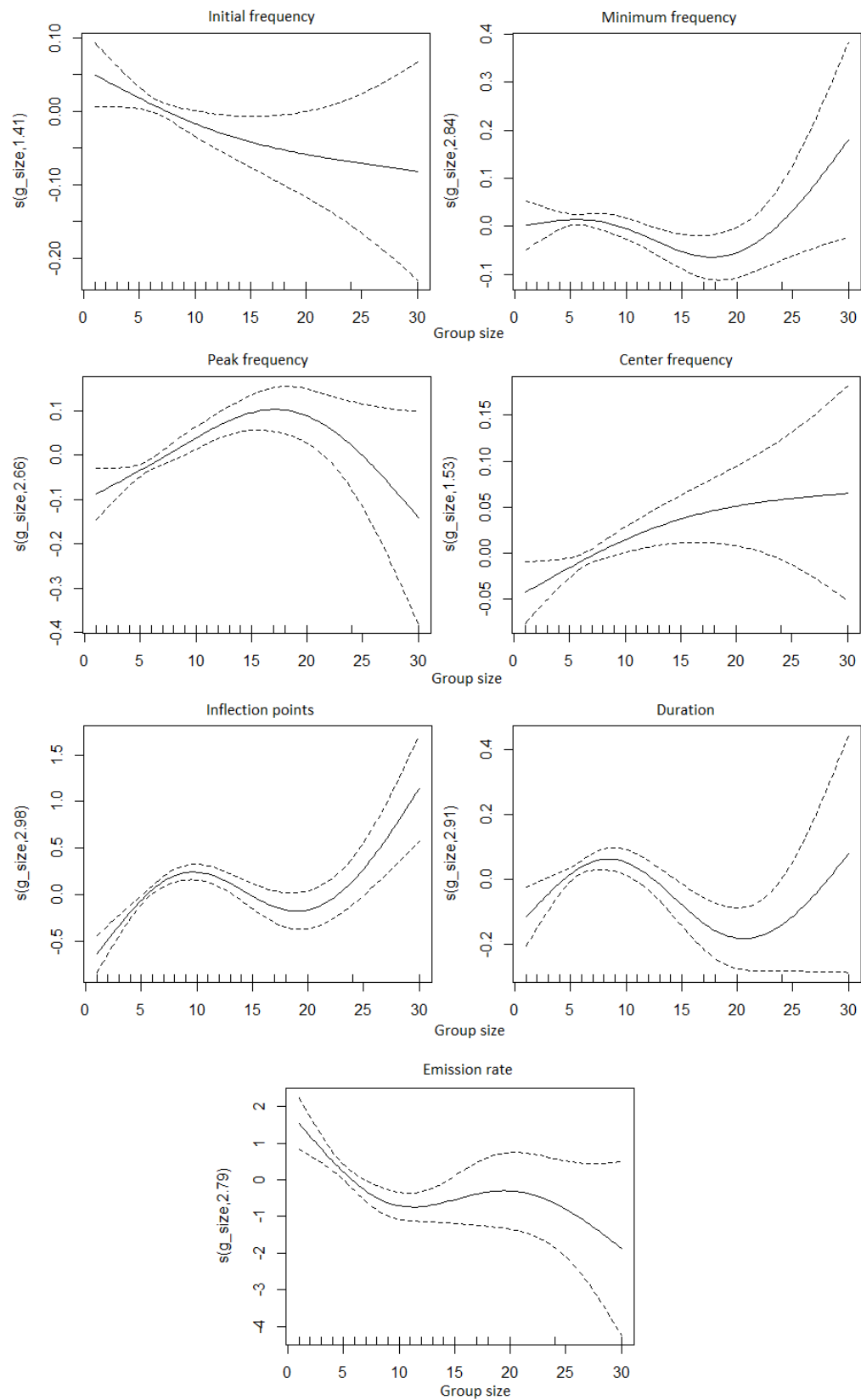


Figure 5. Estimated smooth functions (solid lines) with 95% confidence interval (dashed lines) of the explanatory variable group size from each of the selected generalized additive models (GAMs) fitted to Lahille's bottlenose dolphin whistle parameters. Y-axis = fitted function with estimated degrees of freedom in parenthesis; x-axis = variable range with rugplots indicating sampled values.

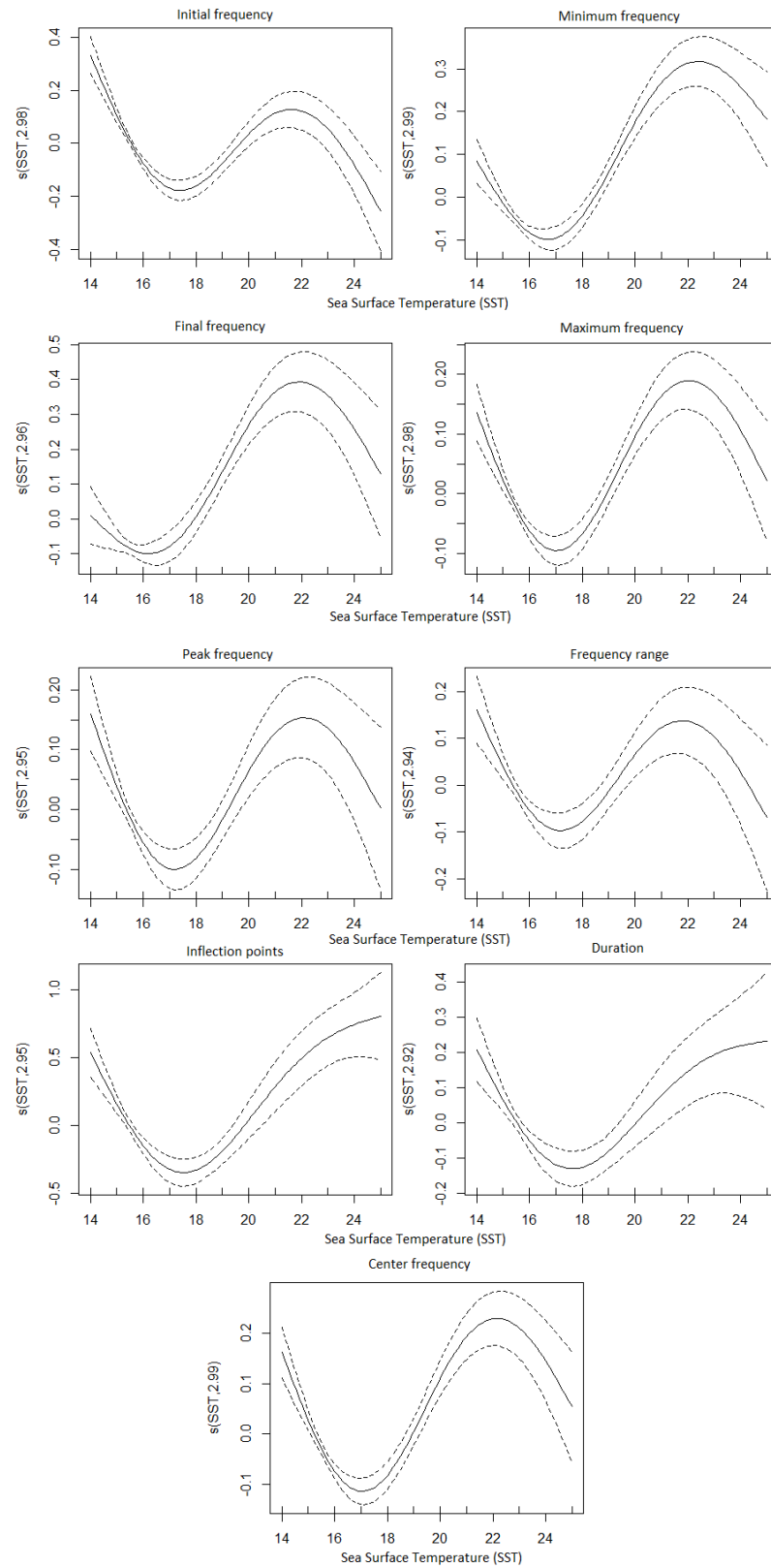


Figure 6. Estimated smooth functions (solid lines) with 95% confidence interval (dashed lines) of the explanatory variable sea surface temperature (SST) from each of the selected generalized additive models (GAMs) fitted to Lahille's bottlenose dolphin whistle parameters. Y-axis = fitted function with estimated degrees of freedom in parenthesis; x-axis = variable range with rugplots indicating sampled values. The partial effects of factor variables are also included.

4. Discussion

Our results show that Lahille's bottlenose dolphins present a rich vocal repertoire, including stereotyped whistles and variable whistle contour shapes and acoustic parameters. While some similarities were observed, most whistle parameters differed among the three social units living in the PLE region.

Variation in whistle frequency contours (see Table 2) has also been reported for bottlenose dolphins from different locations along the coast of the Gulf of Mexico, where such differences corresponded to the degree of movement of animals between sites (Bazúa-Durán, 2004). However, the author suggests that the interaction between dolphins from different areas was not the only factor that promoted whistles variation. Whistle contour distributions also varied for different populations of Guiana, *Sotalia guianensis* (Azevedo and Van Sluys, 2005), and spinner, *Stenella longirostris* (Bazúa-Duran, 2004) dolphins, but did not follow the same pattern with distance between populations as observed for bottlenose dolphins, implying a different whistle system (Bazúa-Duran, 2004, Azevedo and Van Sluys, 2005).

The significant differences we observed in most whistle parameters among the three social units indicate microgeographic variations in their vocal repertoire. Delphinid whistles are known to vary both among and within populations of the same species (Ding *et al.*, 1995; Bazúa-Durán & Au, 2004; Azevedo & Van Sluys, 2005; Morisaka *et al.*, 2005a; Samarra *et al.*, 2015). In general, duration and the number of inflection points seem to have relatively high intra-population or intra-specific variability in comparison to whistle frequency variables, as they may be modulated to add additional information to communication (Steiner, 1981; Ding *et al.*, 1995; Azevedo & Van Sluys, 2005; Morisaka *et al.*, 2005a). Indeed, duration and the number of inflections also had the

highest coefficients of variation in our study (Table 3), what could mask potential differences among the social units for these parameters. Nevertheless, both parameters were significantly higher for the estuarine unit in relation to the northern. For the southern unit, although mean duration was also lower than in the estuarine dolphins, the difference was not significant (GLM, $p < 0.1$). The PLE region is a semi-close area, with intense traffic of commercial and fishing boats, which differs from the open coastline. Longer whistle duration might be a vocal adaptation to noisy soundscapes that could drive intraspecific differentiation (Ding *et al.*, 1995). Foote *et al.* (2004) also observed longer whistles for three social groups of orcas exposed to boat traffic in the nearshore waters of Washington state (USA), suggesting a communication response to anthropogenic noise as it reaches a critical level for the animals.

Of all parameters, frequency range seemed to differ the most among the three units, as it was significant for both northern and southern dolphins in relation to the estuarine unit, and with opposing relationships. Other variables such as initial, minimum, maximum and peak frequencies also differed between two of the three units, suggesting additional microgeographic differences in vocal parameters. Frequency variables are also considered key factors to distinguish populations (Morisaka *et al.* 2005a; Azevedo & Van Sluys, 2005; Rossi-Santos & Podos, 2006), even though they seem to have less importance at the individual differentiation level (Bazúa-Durán & Au, 2004). End and center frequencies, however, did not differ among the social units, indicating common whistle characteristics among neighboring populations. The acoustic capacity to adapt to changes within societies, environments and species assemblages may indicate the plasticity aspect of their communication and should reflect in some of their whistle characteristics (May-Collado, 2010). Nevertheless, factors as specific associations within

populations, soundscape environments, genetic and morphological differences and behaviors may drive repertoire distinctness and promote the development of different cultures (Bazúa-Durán & Au, 2004; Whitehead & Rendell, 2015). Coastal bottlenose dolphins are known to travel large distances for different purposes (Wells *et al.*, 1990; Robinson *et al.*, 2012), so the contact with individuals from different populations could represent an opportunity for vocal exchange and culture transmission among them (Whitehead & Rendell, 2015). In South America, roundtrips of about 600km were recorded for bottlenose dolphins in Argentina (Würsig & Würsig, 1979), and dolphins known from the Uruguayan coast (Laporta *et al.*, 2016) have been identified more than 200 km away, at the coastline adjacent to the PLE, in southern Brazil (Genoves *et al.*, *in press*). Moderate genetic contact among some communities within the SB-U metapopulation has also been identified (Fruet *et al.*, 2014), providing further evidence of connections among them. Nevertheless, despite living in a fission-fusion social system (Wells & Scott, 2018), strong long-term associations among Lahille's bottlenose dolphin individuals within each social unit at the PLE (Genoves *et al.*, *in press*), might contribute to the development of unique vocal repertoires. In addition, each social unit demonstrated having some specific stereotyped whistles (Table 1). Stereotyped whistles are related to a characteristic form of individual communication, constructed throughout life by each dolphin, expressed as sequential vocalizations (Janik 2009, Janik *et al.*, 2013), contributing to reinforce the observed distinction between social units. Curiously, the southern unit had more modulated signals, accounting for all whistles with more than six inflection points. However, the estuarine unit had a higher coefficient of variation for all whistle parameters in general, which may suggest greater complexity of their vocalizations. Our findings suggest that social structure may drive whistle variability

among dolphin communities with overlapping ranges, as proposed by Whitehead & Rendell (2015).

We also showed variables that influenced whistle emissions. Surface behavior was associated to variation in most whistle parameters (Table 5). Vocal adjustments as a function of behavioral states are often report for bottlenose dolphin and other delphinids (Weilgart & Whitehead, 1990; Bazúa-Durán & Au, 2004; Quick & Janik, 2008; May-Collado, 2013; Heiler *et al.*, 2016). Lahille's bottlenose dolphin demonstrated downward shifts of fundamental frequencies (*e.g.* initial, final, minimum, maximum and center frequencies) during traveling and travel-feeding throughout the area. Several studies reported lower vocal activity during traveling than when dolphins are socializing or foraging (Jones & Sayigh, 2002; Cook *et al.*, 2004; Quick & Janik, 2008). Cook *et al.* (2004) suggest that the way dolphins communicate during traveling seems to be an important factor in these changes observed in whistles, where physical or visual contact may play an important role in joint displacements. Janik & Slater (1998) also noted that bottlenose dolphins rarely use signature whistles when traveling. For some of the parameters, dolphins seemed to use relatively higher frequency calls when performing arousal behaviors, such as feeding and socializing (Fig.2). This finding corroborates with vocal patterns expressed by several mammalian species, where upward shifts in fundamental frequencies are observed related to aroused behavioral states (Briefer, 2012). The increase in frequencies of whistle parameters to avoid masking and maintain the information exchange is reported for this species (Janik, 2009). Audible vocalizations during feeding behaviors may have many advantages for dolphins, as specific whistles may not just coordinate group cohesion and attract conspecifics (Janik, 2009), but also transmit additional context-specific information beyond individual recognition (Janik *et*

al., 1994). However, further studies are necessary to address specifically signature whistle emissions of Lahille's bottlenose dolphins and how they might be related to variability in whistle emission parameters.

The presence of calves was not significant for many of the GAM models, but resulted in a negative relationship for structural parameters, like duration and inflection points, and a positive relationship with fundamental frequencies like minimum and maximum frequencies (Table 5). Fripp and Tyack (2008) described the vocalizations of captive calves during their early stages of life, reporting that they usually emitted whistles with lower frequencies. The frequency values found in the present study are in contrast with other studies conducted with wild animals, which described descending changes in the end and minimum frequencies of whistles when the calves were present in the groups (Heiler *et al.*, 2016). Nevertheless, some studies with bottlenose dolphins have suggested that structural characteristics of whistles, such as duration and inflection points, increase with age and thus younger dolphins would tend to emit less complex and shorter whistles (Caldwell and Caldwell, 1979; Caldwell *et al.*, 1990). This might explain the shorter duration and lower number of inflection points we observed in the presence of calves.

Location helped explaining most whistle parameters (Table 5, Fig. 4). This result also suggests that there is a possible vocal adequacy to the estuary region, where dolphins seemed to whistle longer and use higher frequencies to communicate than in the adjacent coastline, increasing fundamental frequencies (initial, minimum, maximum frequencies and frequency range) regardless of the social unit. Therefore, this adds support to the hypothesis that dolphins may be altering their vocal behavior in the estuary due to boat traffic, as observed previously on this work for resident dolphins of the PLE. The acoustic soundscape of the PLE has never been studied, however, it is a region of intense daily

boat traffic, port activities (e.g. construction of oil platforms), and eventual dredging of the main canal. As previously pointed out, dolphins can change their communications when under stress, modifying their vocal behavior (Janik, 2009). Earlier studies have shown the influence of noise on whistles parameters, suggesting that dolphins are capable of adjusting their communication signals in order to avoid masking information (Morisaka *et al.*, 2005b; Ansmann *et al.*, 2007; Heiler *et al.*, 2016; van Ginkel *et al.*, 2017). Energy produced by boat engines, for example, may overlap with dolphin vocalizations, particularly whistles that present similar frequency ranges (Richardson *et al.*, 1995; May-Collado and Quiñones-Lebrón, 2014). Yet, some studies have suggested a decrease in whistle duration in noisy environments (Buckstaff, 2004; Luís *et al.*, 2014). The north and south areas where vocalizations were recorded consist of an open coastal region characterized by a wave energy dissipation profile, where its exposure and geomorphological composition (sand bars characterized mainly by fine sediments such as sand and mud) (Calliari *et al.*, 1996; Calliari *et al.*, 2007) can contribute to noise attenuation. Future research comparing soundscapes between PLE and the northern and southern areas of this study might help test the noise hypothesis.

The smooth term for group size had significant effects on seven of the ten GAM models, (Table 5, Fig. 5). A general downward trend was observed for the initial frequency. Lahille's bottlenose dolphins also seemed to increment the number of inflection points and produce longer whistles when groups got larger, peaking around ten individuals for both, and then continuing to increase with group size more clearly only in the case of inflection points. We also found that the number of whistle emissions per dolphin tended to decrease when the group got larger. The contrary relation was suggested by other studies with small groups, as observed for the *Tursiops truncatus* (Cook *et al.*,

2004; Jones and Sayigh, 2002) and the dolphins *Sousa chinensis* (Van Parijs *et al.*, 2002). Nevertheless, our results corroborate other studies with bottlenose dolphins, which report that in groups with more than 5-10 bottlenose dolphins, individual whistle rates do not change or begin to decrease with increasing groups size (Jones and Sayigh, 2002; Quick and Janik, 2008; Hawkins and Gartside, 2010; Luís *et al.*, 2016). Janik (2009) suggests that dolphins restrict their emission of acoustic signals to the minimum necessary when levels of acoustic interference begin to impair their transmission of information. Given the potential masking effect of acoustic signals when many whistles are emitted over the same period, it is argued that there may be a limit, in larger groups, where communication begins to collapse and efficiency in information exchange decreases, forcing dolphins to adjust their communication (Quick and Janik, 2008; Janik *et al.*, 2009). This limit was more distinctive for peak frequency, where it is possible to observe the downward change around 17 individuals (Fig. 5).

The smooth term of sea surface temperature was significant in all models except the emission rate (Table 5), and shows a very similar pattern overall, with lower values around 17°C and higher values around 22°C (Fig. 6). We believe this pattern partially represents the seasonal pattern in temperature, but it may also be related to how efficiently sound travels as a function of water density (Au and Hastings, 2008; Shekaari *et al.*, 2008).

In conclusion, our results indicate microgeographic variation in the whistle repertoire of Lahille's bottlenose dolphins in southern Brazil, adding support to the distinction of the three social units initially proposed by Genoves *et al.* (*in press*). We also provided, for the first time for Lahille's bottlenose dolphins, information on the influence of biotic and abiotic variables on their acoustic parameters. The significant

relationships of several of the explanatory variables with the whistle parameters used as response variables seemed, in general, ecologically sensible and were supported by other studies (Bazúa-Durán & Au, 2004; Quick and Janik, 2008; Heiler *et al.*, 2016). Yet, the explained deviance of the GAM models was relatively low, suggesting that additional covariates that might explain part of the observed variance are missing in our study. Future studies should try to identify these variables, perhaps by including additional habitat variables, such as water turbidity and salinity, and also information at the individual level such as strong and weak social alliances and the production of distinct signature whistles.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to Lauro Barcellos and the staff of the Museu Oceanográfico “Prof. Eliézer C. Rios” for the logistical support. We also thank all field assistants for helping data collection, especially Juliana Di Tullio, Rodrigo Genoves, Andrea Milanelli, Raphaela Gurgel, Camila Camargo and Liane Dias. Special thanks to Gabriel Melo dos Santos and Maurício Camargo for the useful comments and suggestions on the manuscript. Financial support was provided by Yaqu Pacha (Germany), Porto do Rio Grande, Conselho Municipal de Defesa do Meio Ambiente (COMDEMA) and Secretaria de Município do Meio Ambiente (SMMA). Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq/Brazil) provided a graduate scholarship to the first author (Programa de Pós-Graduação em Oceanografia Biológica, Instituto de Oceanografia, FURG) and a research fellowship to LDR (PQ 309258/2016-2). This is a contribution of the Research Group “Ecologia e Conservação da Megafauna Marinha – EcoMega/CNPq”. This research is part of the Master’s Dissertation written by the first author under the supervision of the last.

References

- Abreu, P. C., Hartmann, C., and Odebrecht, C. (1995). "Nutrient-rich saltwater and its influence on the phytoplankton of the patos lagoon estuary, Southern Brazil," *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **40**(2), 219–229.
- Ansmann, I. C., Goold, J. C., Evans, P. G., Simmonds, M., and Keith, S. G. (2007). "Variation in the whistle characteristics of short-beaked common dolphins, *Delphinus delphis*, at two locations around the British Isles," *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, **87**(1), 19-26.
- Au, W. W. L., and Hastings, M. C. (2008). "Principles of marine bioacoustics," New York: Springer Science.
- Azevedo, A.F. and Van Sluys. M. (2005). "Whistles of tucuxi dolphins (*Sotalia fluviatilis*) in Brazil: comparisons among populations," *Journal of the Acoustical Society of America*, **117** (3), 1456-1464.
- Azevedo, A. F., Oliveira, A. M., Rosa, L. D., and Lailson-Brito, J. (2007). "Characteristics of whistles from resident bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in southern Brazil," *The Journal of the Acoustical Society of America*, **121**(5), 2978-2983.
- Barreto, A. S. (2000). "Variação craniana e genética de *Tursiops truncatus* (Cetacea, Delphinidae) na costa Atlântica da América do Sul," PhD thesis, Universidade Federal do Rio Grande, RS, Brazil. 112p.
- Bastida R., Rodríguez D., Secchi E. R. and Silva V. (2007). "Mamíferos Acuáticos de Sudamérica y Antártida," Vazquez Mazzini, Buenos Aires.

- Bazúa-Durán, C. (2004). "Differences in the whistle characteristics and repertoire of bottlenose and spinner dolphins," *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **76**(2), 386-392.
- Bazúa-Durán, C. and Au, W. W. L. (2004). "Geographic variations in the whistles of spinner dolphins (*Stenella longirostris*) of the Main Hawaiian Islands," *Journal of the Acoustical Society of America*, **116**, 3757–3769.
- Buckstaff, K. (2004). "Effects of watercraft noise on the acoustic behavior of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*," in Sarasota Bay, Florida. *Marine Mammal Science*, **20**(4): 709-725.
- Briefer, E. F. (2012). Vocal expression of emotions in mammals: mechanisms of production and evidence. *Journal of Zoology*, 288(1), 1e20.
- Caldwell, M. C., and Caldwell, D. K. (1979). "The whistle of the Atlantic bottlenosed dolphin (*Tursiops truncatus*)—ontogeny," In *Behavior of marine animals* (pp. 369-401). Springer, Boston, MA.
- Caldwell, M. C., Caldwell, D. K., and Tyack, P. L. (1990). "Review of the signature-whistle hypothesis for the Atlantic bottlenose dolphin," In: S. Leatherwood & R.R. Reeves (eds) *The bottlenose dolphin*. Academic Press, San Diego, California.
- Calliari, L. J., Klein, A. H., and Barros, F. C. (1996). "Beach differentiation along the Rio Grande do Sul coastline (southern Brazil)," *Revista Chilena de Historia Natural*, **69**, 485-493.

- Calliari, L. J., Holland, K. T., Pereira, P. S., Guedes, R. M., and Santo, R. E. (2007). “The Influence of Mud on the Inner Shelf, Shoreface, Beach, and Surf Zone Morphodynamics—Cassino, Southern Brazil,” In *Coastal Sediments' 07* (pp. 1455-1465).
- Committee on Taxonomy (2018). “List of marine mammal species and subspecies,” Society for Marine Mammalogy, www.marinemammalscience.org (accessed 11 Nov 2018)
- Connor, R. C., Wells, R. S., Mann, J. and Read, A. J. (2000). “The bottlenose dolphin. Social relationships in a fission-fusion society,” In: *Cetacean societies*, eds., J. Mann, R. C, 91-125.
- Conner, D. A. (1982). Dialects versus geographic variation in mammalian vocalizations. *Animal Behaviour*, **30**, 297–298
- Cook, M. L., Sayigh, L. S., Blum, J. E., and Wells, R. S. (2004). “Signature-whistle production in undisturbed free-ranging bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*),” *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **271**(1543), 1043.
- Costa, A. P. B., Rosel, P. E., Daura-Jorge, F. G. and Simões-Lopes, P. C. (2016). “Offshore and coastal common bottlenose dolphins of the western South Atlantic face-to-face: What the skull and the spine can tell us,” *Marine Mammal Science*, **32**(4), 1433–1457.
- Dalla Rosa, L. (1999). “Estimativa do tamanho da população de botos, *Tursiops truncatus*, do estuário da Lagoa dos Patos, RS, a partir da fotoidentificação de indivíduos com marcas naturais e da aplicação de modelos de marcação-

- recaptura” (“Population size of bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*, in the Patos Lagoon estuary, RS, using photo-id and markrecapture models”), Master thesis, Fundação Universidade do Rio Grande, RS, Brazil.
- Ding, W., Wuersig, B. and Evans, W. E. (1995). “Whistles of bottlenose dolphins: comparisons among populations,” *Aquat. Mamm.* **21**: 65-77.
- Di Tullio, J. C., Fruet, P. F. and Secchi, E. R. (2015). “Identifying critical areas to reduce bycatch of coastal common bottlenose dolphins *Tursiops truncatus* in artisanal fisheries of the subtropical western South Atlantic,” *Endangered Species Research*, **29**, 35–50.
- Esch, H. C., Sayigh, L. S. and Wells, R. S. (2009). “Quantifying parameters of bottlenose dolphin signature whistles,” *Marine Mammal Science*, **25**(4), 976-986.
- Foote, A. D., Osborne, R. W. and Hoelzel, A. R. (2004). “Environment: whale-call response to masking boat noise,” *Nature*, **428**(6986), 910.
- Fouda, L., Wingfield, J. E., Fandel, A. D., Garrod, A., Hodge, K. B., Rice, A. N., and Bailey, H. (2018). “Dolphins simplify their vocal calls in response to increased ambient noise,” *Biology letters*, **14**(10), 20180484.
- Fripp, D., and Tyack, P. (2008). “Postpartum whistle production in bottlenose dolphins,” *Marine Mammal Science*, **24**(3), 479-502.
- Fruet, P. F., Secchi, E. R., Daura-Jorge, F., Vermeulen, E., Flores, P. A. C., Simões-Lopez, P. C., Genoves, R. C., Laporta, P., Di Tullio, J. C., Freitas, T. R. O., Dalla Rosa, L., Valiati, V. H., Beheregaray, L. B. and Möller, L. M. (2014). “Remarkably low genetic diversity and strong population structure in common

bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) from coastal waters of the Southwestern Atlantic Ocean. *Conservation Genetics* (15): 875-895.

Fruet, P. F., Daura-Jorge, F. G., Möller, L. M., Genoves, R. C. and Secchi, E. R. (2015). “Abundance and demography of bottlenose dolphins inhabiting a subtropical estuary in the Southwestern Atlantic Ocean,” *Journal of Mammalogy*, **96**(2), 332–343.

Fruet, P. F., Secchi, E. R., Di Tullio, J. C., Simões-Lopes, P. C., Daura-Jorge, F., Costa, A. P. B., Vermeulen, E., Flores, P. A. C., Genoves, R. C., Laporta, P., Beheregaray, L. B. and Möller, L. M. (2017). “Genetic divergence between two phenotypically distinct bottlenose dolphin ecotypes suggests separate evolutionary trajectories,” *Ecology and Evolution* **7**, 9131–9143.

Genoves, R. C., Fruet, P. F., Di Tullio, J. C. and Secchi, E. R. (*in press*). “Spatiotemporal use predicts social partitioning of bottlenose dolphins with strong home range overlap,” *Ecol Evol* (**00**): 1–18.

Goodall, R. N. P., Marchesi, M. C., Pimper, L. E., Dellabianca, N., Benegas, L. G., Torres, M. A. and Riccialdelli, L. (2011). “Southernmost records of bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*, ” *Polar Biology* (**34**): 1085-1090.

Hawkins, E. R. (2010). “Geographic variations in the whistles of bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*) along the east and west coasts of Australia,” *The Journal of the Acoustical Society of America*, **128**(2), 924-935.

- Hawkins, E. R., and Gartside, D. F. (2010). "Whistle emissions of Indo-Pacific bottlenose dolphins (*Tursiops aduncus*) differ with group composition and surface behaviors," *The Journal of the Acoustical Society of America*, **127**(4), 2652-2663.
- Heiler, J., Elwen, S. H., Kriesell, H. J., and Gridley, T. (2016). "Changes in bottlenose dolphin whistle parameters related to vessel presence, surface behaviour and group composition," *Anim. Behav.* **117**, 167–177.
- Janik, V. M., Dehnhardt, G., Todt, D. (1994). "Signature whistle variations in a bottlenosed dolphin, *Tursiops truncatus*," *Behav. Ecol. Sociobiol.* **35**, 243–248.
- Janik, V. M., Slater, P. J. B. (1998). "Context-specific use suggests that bottlenose dolphin signature whistles are cohesion calls," *Anim. Behav.* **56**, 829–838.
- Janik, V. M. (2009). "Acoustic communication in delphinids," In: *Advances in the Study of Behavior* (Naguib, M. & Janik, V.M., eds). Academic Press, Burlington, 123—157.
- Janik, V. M., King, S. L., Sayigh, L. S. and Wells, R. S. (2013). "Identifying signature whistles from recordings of groups of unrestrained bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *Mar Mammal Sci* **29**:1–14.
- Jones, G. J., and Sayigh, L. S. (2002). "Geographic Variation in Rates of Vocal Production of Free-Ranging Bottlenose Dolphins," *Mar. Mammal Sci.* **18**, 374–393.
- Kjerfve, B. (1986). "Comparative oceanography of coastal lagoons," In D. A. Wolfe (ed.), *Estuarine variability*. Academic. p. 63-81.

- Laporta, P., Fruet, P., and Secchi, E. (2016). "First estimate of common bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*)(Cetacea, Delphinidae) abundance off Uruguayan Atlantic coast," *Latin American Journal of Aquatic Mammals*, **11**(1-2), 144-154.
- Legeckis, R. and Gordon, A. (1982). "Satellite observations of the Brazil and Falklands currents – 1975 to 1976 and 1978," *Deep Sea Research*, **29** (3A): 375-401.
- Lilly, J. C. and Miller, A. M. (1961). "Sounds emitted by the bottlenose dolphin," *Science*, **133**(3465), 1689-1693.
- Lima, I. M. S., Andrade, L. G., Bittencourt, L., Bisi, T. L., Flach, L., Lailson-Brito, J. and Azevedo, A. F. (2016). "Whistle comparison of four delphinid species in Southeastern Brazil," *J. Acoust. Soc. Am.* **139** (5).
- Luís, A. R., Couchinho, M. N., and dos Santos, M. E. (2014). "Changes in the acoustic behavior of resident bottlenose dolphins near operating vessels," *Marine Mammal Science*, **30**(4), 1417-1426.
- Luís, A. R., Couchinho, M. N. and dos Santos, M. E. (2016) Signature whistles in wild bottlenose dolphins: long-term stability and emission rates. *acta ethologica*, **19**(2), 113-122.
- Lutz, V., Segura, V., Dogliotti, A., Tavano, V., Brandini, F. P., Calliari, D. L. and Benavides, H. (2018). "Overview on Primary Production in the Southwestern Atlantic," In *Plankton Ecology of the Southwestern Atlantic* Springer, Cham, pp. 101-126.

- Mattos, P., Dalla Rosa, L. and Fruet, P. (2007). "Activity budgets and distribution of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) in the Patos Lagoon estuary, southern Brazil," *Latin American Journal of Aquatic Mammals*, **6**, 1–27.
- May-Collado, L. J., and Wartzok, D. (2008). "A comparison of bottlenose dolphin whistles in the Atlantic Ocean: factors promoting whistle variation," *Journal of Mammalogy*, **89**(5), 1229-1240.
- May-Collado, L. J. (2010). "Changes in whistle structure of two dolphin species during interspecific associations," *Ethology* **116**, 1–10.
- May-Collado, L. J. (2013). "Guyana dolphins (*Sotalia guianensis*) from Costa Rica emit whistles that vary with surface behaviors," *Journal of the Acoustical Society of America*, **134**(4), 359-365.
- May-Collado, L.J., Quiñones-Lebrón, S.G., (2014). Dolphin changes in whistle structure with watercraft activity depends on their behavioral state. *J. Acoust. Soc. Am.* **135** (4).
- Morisaka, T., Shinohara, M., Nakahara, F., and Akamatsu, T. (2005a). "Geographic variations in the whistles among three Indo-Pacific bottlenose dolphin *Tursiops aduncus* populations in Japan," *Fisheries Science*, **71**(3), 568-576.
- Morisaka, T., Shinohara, M., Nakahara, F. and Akamatsu, T., (2005b). "Effects of ambient noise in the whistles of Indo-Pacific bottlenose dolphin *Tursiops aduncus* populations in Japan," *Journal of Mammalogy*, **86**, 541-546.
- Müller, O. O., and Castaing, P. (1999). "Hydrographical characteristics of the estuarine area of Patos Lagoon (301S, Brazil)," In: Perillo, M.E., Piccolo, M.C., Pino-

- Quivira, M. (Eds.), *Estuaries of South America, their Geomorphology and Dynamics*. Springer, Berlin, pp. 83–100.
- Nixon, S. W., Oviatt, C. A., Frithsen, J. and Sullivan, B. (1986). “Nutrients and the productivity of estuarine and coastal marine ecosystems,” *Journal of the Limnological Society of South Africa* **12**, 43–71.
- Odebrecht, C., Abreu, P. C., Bemvenuti, C. E., Copertino, M., Muelbert, J. H., Vieira, J. P., and Seeliger, U. (2010). “The Patos Lagoon Estuary: biotic responses to natural and anthropogenic impacts in the last decades (1979–2008),” *Coastal Lagoons: Critical Habitats of Environmental Change*, 437–459.
- Peters, R. A., Hemmi, J. M. and Zeil, J. (2007). “Signaling against the wind: modifying motion-signal structure in response to increased noise,” *Current Biology*, **17**(14), 1231–1234.
- Quick, N. J, Janik, V. M. (2008). “Whistle rates of wild bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*): influences of group size and behavior,” *Journal of comparative psychology* (Washington, D.C.: 1983), **122** (3), p. 305–11.
- R Development Core Team (2015) *R: A language and environment for statistical computing*.
- *Rankin, S.; Archer, F.; Keating, J. L. (2017) *Acoustic classification of dolphins in the California Current using whistles, echolocation clicks, and burst pulses*
- Rendell, L., and Whitehead, H. (2001). “Culture in whales and dolphins,” *Behavioral and Brain Sciences*, **24**(02), 309–324.

- Richardson, W.J., Green Jr., C.R., Malme, C.I., Thompson, D.H., (1995). "Marine Mammals and Noise," Academic Press, San Diego, California, USA, p. 576.
- Romeu, B., Cantor, M., Bezamat, C., Simões-Lopes, P. C., and Daura-Jorge, F. G. (2017). "Bottlenose dolphins that forage with artisanal fishermen whistle differently," *Ethology*, **123**(12), 906-915.
- Rossi-Santos, M. R., and Podos, J. (2006). "Latitudinal variation in whistle structure of the estuarine dolphin *Sotalia guianensis*," *Behaviour*, **143**, 347-364.
- Shane, S. H. (1990). "Behavior and ecology of the bottlenose dolphin at Sanibel Islands, Florida," In: Leatherwood, S. and Reeves, R. R. (Eds.) *The bottlenose dolphin*. San Diego, CA: Academic Press, p. 245–265.
- Shekaari, H., Mansoori, Y., and Sadeghi, R. (2008). "Density, speed of sound, and electrical conductance of ionic liquid 1-hexyl-3-methyl-imidazolium bromide in water at different temperatures," *The Journal of Chemical Thermodynamics*, **40**(5), 852-859.
- Tellechea, J. S., Bouvier, D., Cambon-Tait, D., Norbis, W. (2014). "Passive acoustic monitoring of bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) on the Uruguayan coast: Vocal characteristics and seasonal cycles," *Aquatic Mammals* **40**(2): 173–184.
- Watwood, S. L., Owen, E. C., Tyack, P. L. and Wells, R. S. (2005). "Signature whistle use by temporarily restrained and free-swimming bottlenose dolphins, *Tursiops truncatus*," *Animal Behaviour*, **69**(6), 1373-1386.

- Weilgart, L. S. and Whitehead, H. (1990). "Vocalizations of the North Atlantic pilot whale (*Globicephala melas*) as related to behavioral contexts. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, **26**(6), 399-402.
- Wells, R. S., Scott, M. D. (2018). "Bottlenose Dolphin, *Tursiops Truncatus*, Common Bottlenose Dolphin," In: *Encyclopedia of marine mammals*, 3rd edition. San Diego, CA: Academic Press, 118-125.
- Whitehead, H. (1998). "Cultural selection and genetic diversity in matrilineal whales," *Science*, **282**(5394), 1708-1711.
- Whitehead H (2008a). *Analyzing animal societies: quantitative methods for vertebrate social analysis*. University of Chicago Press.
- Whitehead, H. and Rendell, L. (2015). "The cultural lives of whales and dolphins" (1st ed.). Chicago, IL: University of Chicago Press.
- Wickert, J.C., von Eye, S. M., Oliveira, L.R., Moreno, I.B. (2016). "Revalidation of *Tursiops gephyreus* Lahille, 1908 (Cetartiodactyla: Delphinidae) from the southwestern Atlantic Ocean," *Journal of Mammalogy*, **97**(6), 1728-1737.
- Wood, S.N. (2017). "Generalized Additive Models: An Introduction with R," Second Edition (CRC Press).
- Würsig, B., and Würsig, M. (1979). "Behavior and ecology of the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*, in the South Atlantic," *Fishery Bulletin*, (2).
- Zuur, A. F., E. N. Ieno, N. J. Walker, A. A. Saveliev and G. M. Smith. (2009). "Mixed effects models and extensions in ecology with R," Springer, New York, NY.

- Zuur, A. F., Ieno, E. N., Elphick, C. S. (2010). "A protocol for data exploration to avoid common statistical problems," *Methods Ecology and Evolution*, **1**, 3–14.
- van Ginkel, C., Becker, D. M., Gowans, S., and Simard, P. (2018). "Whistling in a noisy ocean: bottlenose dolphins adjust whistle frequencies in response to real-time ambient noise levels," *Bioacoustics*, **27**(4), 391-405.
- Van Parijs, S. M., Smith, J., and Corkeron, P. J. (2002). "Using calls to estimate the abundance of inshore dolphins: a case study with Pacific humpback dolphins *Sousa chinensis*," *Journal of Applied Ecology*, **39**(5), 853-864.