

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PADOVA

Dipartimento di Biologia
Corso di Laurea in Biologia
Curriculum Biologia Generale



ELABORATO DI LAUREA

Apprendimento vocale: un caso di evoluzione convergente tra uccelli e uomo

Tutor: Prof. Andrea Pilastro
Dipartimento di Biologia

Laureanda: Sara Beggiato

ANNO ACCADEMICO 2015/2016

INDICE

1. Introduzione	5
1.1. Cos'è l'apprendimento vocale	5
1.2. Come funziona	6
2. Strutture anatomiche e vie nervose	7
2.1. Nuclei vocali e connessioni	7
2.2. Analogie e differenze tra uccelli e mammiferi	9
3. Convergenze molecolari	11
3.1. FoxP2	11
3.2. SLIT-ROBO	12
3.3. Parvalbumina	13
4. Ipotesi evoluzionistiche	14
4.1. Ipotesi qualitative vs ipotesi quantitativa	14
4.2. Pressioni selettive	16
4.3. Possibili origini anatomiche delle vie neurali	17
5. Conclusioni	19
Bibliografia	21

1. Introduzione

Lo scopo di questa tesi è di mostrare come, in gruppi animali la cui storia evolutiva si è separata più di 300 milioni di anni fa, siano stati selezionati adattamenti molecolari, anatomici e comportamentali simili per arrivare ad ottenere apprendimento vocale.

La tesi è strutturata in quattro capitoli. Nel primo viene spiegato cos'è l'apprendimento vocale, in quali animali si osserva e quali sono le modalità adottate dai vari animali per apprendere nuove vocalizzazioni. Nel secondo capitolo vengono descritte le strutture anatomiche che sottostanno a questo carattere, sia nella classe degli uccelli che in quella dei mammiferi, con una particolare attenzione agli aspetti convergenti. Nel terzo vengono descritti tre geni che stanno alla base dell'apprendimento vocale, selezionati nelle diverse specie per svolgere le stesse funzioni. Nel quarto capitolo si passano in rassegna le diverse ipotesi evuzionistiche che cercano di spiegare quale potrebbe essere stata l'origine anatomica dell'apprendimento vocale, quali fattori potrebbero aver contribuito al suo affermarsi e quali invece potrebbero aver agito come ostacolo.

1.1 Che cos'è l'apprendimento vocale

L'apprendimento vocale è la capacità di apprendere vocalizzazioni nuove tramite l'imitazione di conspecifici o di individui appartenenti a specie diverse. Al momento, quest'abilità è stata dimostrata sperimentalmente solo in tre ordini molto distanti tra loro di uccelli: colibrì, pappagalli e oscini appartenenti ai passeriformi, e in poche specie di mammiferi: umani, cetacei (balene e delfini), pinnipedi (foche e leoni marini), elefanti e pipistrelli. Al contrario, la maggior parte dei vertebrati è in grado di associare significati ai suoni percepiti, capacità che viene definita apprendimento uditivo o contestuale e che sta alla base dell'apprendimento vocale (Jarvis, 2006; Feenders et al., 2008; Petkov e Jarvis, 2012). Ad esempio un cane è in grado di associare un comando ad un suono (come "riporta") ma non è capace di imitarlo. Un pappagallo, oltre ad imparare ad associare un significato a quella parola, può riprodurla.

L'apprendimento vocale non si presenta in tutti gli animali allo stesso livello: gli umani sono indubbiamente i più prolifici vocalizzatori, con una produzione apparentemente infinita di combinazioni sonore; pappagalli, colibrì e alcuni corvidi sono in grado di produrre da centinaia a migliaia di suoni mentre il diamante mandarino (*Taeniopygia guttata*) o diamantino, da adulto è in grado di cantare un'unica canzone con poche variazioni (Petkov e Jarvis, 2012). La capacità di imitare animali appartenenti a specie diverse è molto rara e generalmente l'apprendimento vocale è limitato ai conspecifici (Jarvis, 2006).

Dal momento che gli animali che presentano apprendimento vocale sono tutti distanti filogeneticamente tra loro, si presuppone che questo carattere si sia evoluto in maniera convergente (Hara et al., 2012). A sostegno di questa ipotesi

c'è anche l'osservazione che le vie nervose che lo regolano presentano delle differenze anatomiche nei diversi ordini. Nonostante ciò, tutti gli animali con apprendimento vocale (sia uccelli sia mammiferi) sono caratterizzati da una serie di proprietà comuni: è necessaria infatti la presenza di un feedback uditivo per mantenere la corretta pronuncia delle vocalizzazioni imparate, esiste un periodo critico per l'apprendimento vocale definito periodo sensitivo, si ha la trasmissione culturale del repertorio vocale da una generazione all'altra e il deterioramento di tale repertorio in caso di sordità, sono possibili casi di balbuzie e sono inoltre presenti dialetti diversi in popolazioni distanti tra loro (Hara et al., 2012, Pfenning et al., 2014). Per concludere, le vocalizzazioni vengono apprese e prodotte grazie a diversi nuclei nel prosencefalo ed è essenziale la presenza di una proiezione diretta dalla zona corticale (dall'arcopallium negli uccelli) ai neuroni motori del tronco encefalico che controllano il movimento di laringe o siringe.

1.2 Come funziona

Negli uccelli l'apprendimento è costituito da un mix di predisposizione ed esperienza personale. La predisposizione si è resa evidente negli studi sperimentali: uccelli cresciuti in isolamento -senza tutori o canzoni guida- producono canti anormali, molto più semplici, che tuttavia mantengono caratteristiche specie-specifiche. Nel caso in cui l'uccello, da giovane, sia esposto sia a canzoni della propria specie che di un'altra, tenderà ad imitare i conspecifici pur essendo in grado di produrre anche le altre canzoni. Se invece viene messo in contatto solamente con tutor o registrazioni sonore di un'altra specie imparerà i loro canti (Bolhuis et al., 2010).

In diverse specie l'apprendimento è massimizzato in periodi definiti sensitivi o critici (es. il diamantino) mentre altre, con una maggiore plasticità, sono in grado di imparare canzoni nuove per tutta la vita (vedi i pappagalli). L'apprendimento, negli uccelli ma in maniera simile anche nell'uomo, inizia con una prima fase di ascolto o di memorizzazione delle canzoni del tutore, a cui segue una fase senso motoria di sperimentazione (Bolhuis et al., 2010). I primi tentativi di canto vengono definiti sotto-canzoni e sono paragonabili al babbling o lallazione dei neonati, in cui si ha la ripetizione di coppie di vocali e consonanti ben definite. Le sotto-canzoni vengono confrontate con la memoria della canzone del tutor (chiamata anche template) tramite feedback uditivo. In questa fase, definita di canto plastico, gli errori vengono corretti fino ad ottenere, nel diamantino, una riproduzione fedele dell'originale con appena qualche modifica personale; in altre specie invece il canto finale si discosta da quello memorizzato talmente tanto da risultare irricognoscibile. L'inventiva individuale assume quindi un ruolo maggiore: le sequenze dei canti imitati vengono ricombinate e usate come base per crearne di nuovi (Bolhuis et al., 2010). Una volta perfezionato il canto, questo viene cristallizzato e, tornando al caso del diamantino, mantenuto pressoché costante per tutta la durata della sua vita (Bolhuis et al., 2010). Alcune specie sono in grado di ripetere queste fasi più volte (ad esempio dopo il periodo riproduttivo) e di conseguenza possono modificare il loro canto nel tempo.

2. Strutture anatomiche e vie nervose

Per la produzione di suoni sono necessari innanzitutto organi vocali in grado di causare vibrazioni nell'aria che li attraversa, come la siringe negli uccelli e la laringe in anfibi e mammiferi; tali organi vengono utilizzati sia per le vocalizzazioni innate che per quelle apprese. A questi si aggiungono due circuiti nel prosencefalo presenti negli animali con apprendimento vocale.

Negli uccelli un altro fattore essenziale per la comunicazione è l'apparato uditivo, composto da un meato acustico esterno, un orecchio interno e una serie di regioni uditive nel cervello importanti nella percezione delle canzoni.

Nel prosencefalo troviamo le aree L che ricevono informazioni dal talamo (L2) e le inviano (L1 e L3) al nidopallium caudomediale (NCM) e al mesopallium caudomediale (CMM), i passaggi sono visibili in figura 2.1 (Bolhuis et al., 2010). Si tratta di due nuclei molto importanti nell'apprendimento perché forniscono un feedback uditivo all'uccello che sta imparando una canzone nuova e permettono quindi la correzione di eventuali errori; nell'adulto questo feedback è meno essenziale ma resta comunque un fattore importante, come si può evincere dal peggioramento delle prestazioni canore in animali resi sordi dopo che avevano già raggiunto lo stadio di canzone cristallizzata (Pfenning et al., 2014). E' da sottolineare che il circuito uditivo è presente in tutti gli uccelli pressoché invariato, probabilmente ereditato da un antenato comune (Jarvis, S 2006).

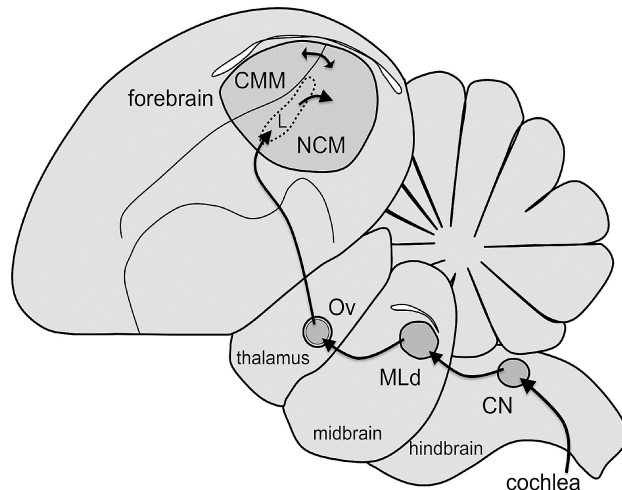


Figura 2.1

2.1 Nuclei vocali e connessioni

Negli uccelli sono stati riconosciuti sette nuclei deputati alla produzione e all'apprendimento dei suoni. In oscini, pappagalli e colibrì prendono nomi diversi nell'eventualità che si siano evoluti in maniera indipendente; presentano delle differenze ma sono comparabili tra loro (vedi Figura 2.2 e 2.3). Il sistema più studiato è quello dello Zebra finch (diamantino), infatti la nomenclatura utilizzata normalmente per indicare i nuclei è la sua. Scendendo in dettaglio, quattro nuclei formano un circuito posteriore responsabile della produzione delle vocalizzazioni già apprese, chiamato anche circuito vocale motorio (Feenders et al., 2008); i più

importanti sono HVC (acronimo per High Vocal Center), nel nidopallium caudale ed RA, nucleo robusto dell'arcopallium, che si connette direttamente con la porzione che innerva trachea e siringe del nervo ipoglosso (abbreviato in nXIIts). RA si collega anche con DM nel mesencefalo che a sua volta è collegato ai motoneuroni di nXIIts (visibile nella figura 2.4) (Petkov e Jarvis, 2012). Gli altri tre nuclei formano un anello in un circuito anteriore e si occupano dell'apprendimento delle vocalizzazioni, per questo è anche chiamato circuito di apprendimento vocale (Feenders et al., 2008). E' composto da LMAN (nucleo laterale magnocellulare del nidopallium anteriore), dall'area X nello striato, e da DLM, porzione media del nucleo dorsolaterale del talamo (Bolhuis et al., 2010). I nuclei più importanti e le loro connessioni sono visibili in Figura 2.2.

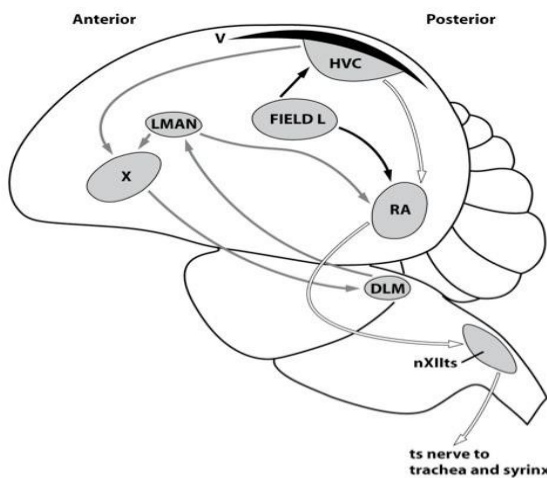


Figure 8-9
Ornithology, Third Edition
© 2007 W.H. Freeman and Company

Figura 2.2

Le principali differenze nei vari gruppi di uccelli riguardano i collegamenti tra il circuito anteriore e quello posteriore (Jarvis, 2006). Ad esempio, negli oscini il circuito anteriore si collega a quello posteriore con una connessione tra LMAN ed RA, mentre il circuito posteriore invia informazioni a quello anteriore da HVC all'area X (Bolhuis et al., 2010); nei pappagalli invece il circuito posteriore invia segnali a quello anteriore da AAC (nucleo centrale dell'arcopallium anteriore), corrispettivo di RA, a NAOc,

corrispondente a LMAN negli oscini mentre il circuito anteriore è collegato al posteriore dai segnali che NAOc invia sia verso NLC, analogo di HVC, che verso AAC, come per gli oscini (vedi figura 2.3) (Jarvis, 2006).

Altra differenza è la posizione dei quattro nuclei posteriori: mentre i tre nuclei anteriori sono localizzati all'incirca nella stessa zona, i posteriori si trovano in zone diverse nei tre ordini di uccelli, soprattutto se li consideriamo in rapporto alle regioni uditive. Nei pappagalli, l'ordine comparso per primo, i nuclei sono distanti

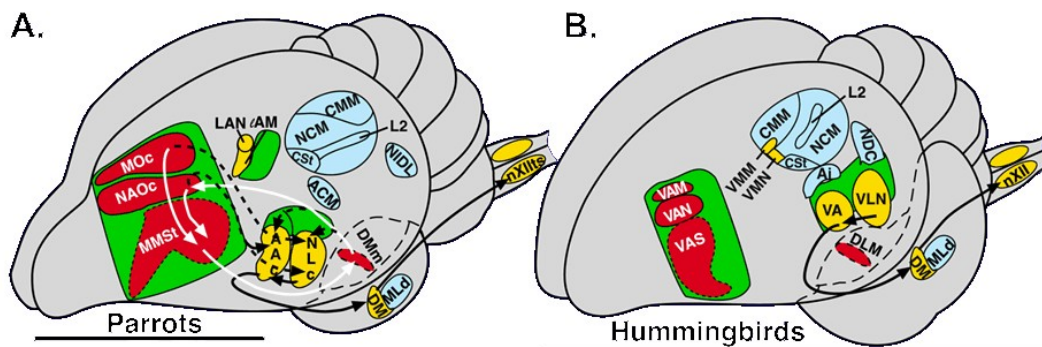


Figura 2.3

dalle zone uditive; nei colibrì sono adiacenti gli uni agli altri mentre negli oscini, l'ordine con origini più recenti, i nuclei si trovano direttamente immersi nelle regioni uditive (Jarvis, S 2006).

Un'ultima cosa da sottolineare è che tutti gli animali incapaci di apprendimento vocale sono risultati anche privi dei nuclei sopra descritti. Negli uccelli, ad esempio, sono presenti soltanto il nucleo del mesencefalo (DM) e i neuroni motori della siringe (nXIIts) ma non sono collegati direttamente al prosencefalo e la funzione di DM è limitata alla produzione delle vocalizzazioni innate (Feenders et al., 2008). Negli ultimi anni tuttavia sono stati trovati dei nuclei molto rudimentali nei topi e in qualche specie di suboscini Passeriformi vicini filogeneticamente agli oscini (Wang et al., 2015). Nei topi è stata inoltre scoperta una debole connessione neurale tra corteccia motoria e motoneuroni del nucleo ambiguo (Arriaga et al., 2012).

2.2 Analogie e differenze tra uccelli e mammiferi

In tutti i primati è presente un circuito per la produzione di vocalizzazioni innate organizzato come segue: i motoneuroni nel nucleo ambiguo controllano i muscoli della laringe; il nucleo ambiguo è innervato dalla formazione reticolare (FR), sempre nel tronco encefalico; FR viene innervata dalla sostanza grigia periacqueduttale (PAG), analoga di DM negli uccelli, ma riceve proiezioni anche dalla regione ventrorostrale dell'area 6 di Brodmann (Area 6vr). PAG è a sua volta connesso con l'amigdala (Amyg), con la corteccia orbitofrontale (OFC) e la corteccia cingolata anteriore (ACC). Si è visto che stimolando l'Area 6vr non vengono prodotte vocalizzazioni e, allo stesso modo, quando questa è lesionata le capacità vocali non subiscono modifiche. Pertanto si presuppone che la funzione di quest'area sia quella di controllare la respirazione associata alle vocalizzazioni piuttosto che le vocalizzazioni stesse (Petkov e Jarvis, 2012). Negli esseri umani, le vocalizzazioni innate vengono prodotte dallo stesso circuito che abbiamo appena descritto, ma il circuito per l'apprendimento vocale comprende molte più regioni (Petkov e Jarvis, 2012). Queste sono: la corteccia motoria primaria, quella premotoria (parte dell'Area 6), la motoria supplementare, delle regioni nella corteccia frontale inferiore e della circonvoluzione temporale superiore, il cervelletto, i gangli della base e il talamo (Petkov e Jarvis, 2012). La corteccia frontale inferiore (Area 44) comprende l'area di Broca, responsabile della produzione dei movimenti necessari a produrre le parole e della comprensione degli stimoli, mentre nella circonvoluzione temporale troviamo l'area di Wernicke, che si occupa di percepire e comprendere ciò che viene detto o letto (Bolhuis et al., 2010). Anche per gli umani è stato proposto un sistema suddiviso in due circuiti: il primo responsabile della produzione delle vocalizzazioni (indicato con le frecce blu in figura 2.4) e il secondo dell'apprendimento delle stesse (le frecce bianche) e costituito da un anello con nuclei disposti nella corteccia, nello striato e nel talamo (Petkov e Jarvis, 2012).

Come negli uccelli con apprendimento vocale esiste una connessione diretta tra la corteccia e i motoneuroni del nucleo ambiguo. Nel nostro caso si tratta della corteccia motoria che innerva la laringe (LMC), paragonabile quindi ad RA negli uccelli (Arriaga et al., 2012, Pfenning et al., 2014). Il nucleo ambiguo (Amb) innervato da LMC è solo funzionalmente analogo di nXIIIts, l'omologo anatomico infatti è il nervo ipoglosso (XII) che nei mammiferi innerva la lingua (Hara et al., 2012).

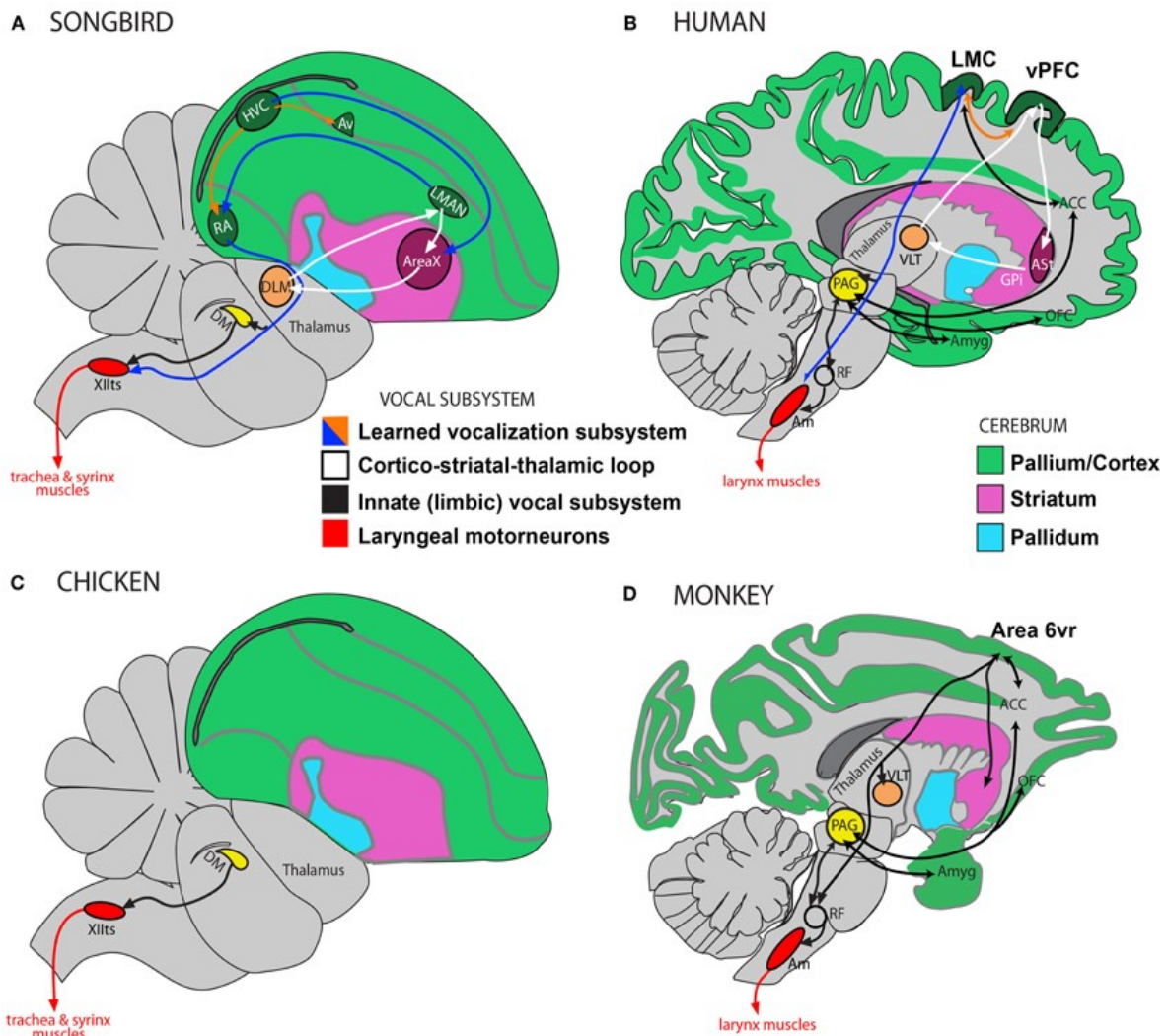


Figura 2.4

Per concludere, i collegamenti diretti tra corteccia e motoneuroni sono rari e, quando presenti, sono spesso associati ad un apprendimento più veloce e ad un migliore controllo dei muscoli innervati (Hara et al., 2012, Wang et al., 2015, Pfenning et al., 2014). Un esempio è la connessione diretta tra la corteccia motoria e i motoneuroni che controllano il movimento delle mani e delle dita (Petkov e Jarvis, 2012).

3. Convergenze molecolari

Il linguaggio è un carattere poligenico e ciò rende difficile identificare i singoli geni responsabili dell'apprendimento. A complicare ancora di più il quadro, i geni finora studiati sono pleiotropici, svolgono cioè più funzioni.

Molti scienziati sono dell'avviso che le convergenze anatomiche e comportamentali tra uccelli e umani siano dovute all'espressione convergente dei geni che formano e regolano i circuiti dell'apprendimento vocale (Hara et al., 2012, Scharff e Petri, 2011, Wang et al., 2015, Pfenning et al., 2014). Le teorie più parsimoniose sostengono che i circuiti si siano sviluppati sfruttando meccanismi molecolari già presenti (Pfenning et al., 2014).

3.1 FoxP2

FoxP2 appartiene ad una famiglia di fattori di trascrizione denominati proteine Fox che presentano un dominio forkhead di legame al DNA altamente conservato (Bolhuis et al., 2010). Nei vertebrati sono presenti quattro geni paraloghi che partecipano alla formazione di molti organi, tra cui cervello, fegato e tratto gastro-intestinale e sono già stati associati a diverse malattie (Bolhuis et al., 2010; Scharff e Petri, 2011). In particolare, mutazioni puntiformi di FOXP2 sono associate ad un disordine linguistico definito disprassia verbale, un disturbo del sistema nervoso centrale che causa difficoltà nel produrre i movimenti di lingua, labbra e mascella necessari per parlare, nell'ordinare i suoni nella giusta sequenza per costruire parole o frasi e nel pronunciare correttamente le parole (Scharff e Petri, 2011). Tutti i casi studiati al momento riguardano eterozigoti, dove l'espressione di FoxP2 funzionante è ridotta della metà rispetto ad individui sani (Bolhuis et al., 2010).

FoxP2 può funzionare sia come repressore, dopo aver dimerizzato, sia come attivatore (Scharff e Petri, 2011). Tra i suoi bersagli troviamo geni che svolgerebbero un ruolo nello sviluppo neurale e nella neurotrasmissione, tra questi Slit1, di cui parleremo più avanti, e CNTNAP2, collegato al disturbo specifico del linguaggio (dsl) (Scharff e Petri, 2011, Pfenning et al., 2014).

Per quanto riguarda l'apprendimento vocale, questo fattore di trascrizione è stato studiato negli uccelli e si è rivelato essenziale sia nella formazione dei circuiti sia nell'apprendimento stesso (Scharff e Petri, 2011). FoxP2 viene espresso nel cervello in formazione come è evidente dalla mortalità dei mutanti omozigoti e dagli studi in cui sono stati misurati i suoi livelli d'espressione negli embrioni (Scharff e Petri, 2011). Gli adulti knockdown per FoxP2 (tramite RNA-interferenza nell'area X) presentano i sintomi tipici dei pazienti affetti da disprassia (imitazione parziale delle canzoni del tutor, sillabe imitate con rese variabili..). Questo dopo che i circuiti si erano già assemblati, dimostrando perciò che la riduzione di FoxP2 ha effetti che non colpiscono solo lo sviluppo embrionale (Scharff e Petri, 2011).

Nella fase di apprendimento vocale giovanile l'area X esprime il 10-20% in più di FoxP2 rispetto allo striato circostante (probabilmente per la formazione di connessioni sinaptiche durante l'apprendimento senso-motorio) (Bolhuis et al., 2010). La sua produzione viene mantenuta anche negli uccelli adulti, in particolare nelle regioni in cui si formano nuovi neuroni (Bolhuis et al., 2010). Si è visto che durante la stagione riproduttiva (canarini) o più in generale, quando l'animale canta rivolto a delle femmine (diamantini) è presente downregulation nell'area X rispetto allo striato; da notare che in questi casi le canzoni sono stereotipate (Scharff e Petri, 2011). In altri periodi dell'anno, quando l'animale aggiunge nuove sillabe alle sue canzoni (canarini) o in canti non direzionati, dove è libero di sperimentare (diamantini), si ha una upregulation di FoxP2 nell'area X rispetto allo striato (Scharff e Petri, 2011).

L'area X presenta neuroni spinati innervati dai neuroni glutammatergici di HVC, i quali, durante il canto, inviano impulsi sparsi in maniera simile ai neuroni specchio (Bolhuis et al., 2010). Queste proiezioni sono modulate a livello pre-sinaptico dai neuroni dopaminergici del mesencefalo, coinvolti in molti sistemi comportamentali (come l'apprendimento per rinforzo) (Bolhuis et al., 2010). Sempre tramite RNA-i si è visto che una riduzione di FoxP2 nei neuroni appena formati non impedisce loro di differenziarsi e migrare correttamente nell'Area X, ma riduce il numero di "spine" e conseguentemente la plasticità neurale (Bolhuis et al., 2010).

FoxP2 è espresso anche nei circuiti vocali di pappagalli e colibrì, ma non si è ancora studiata la sua funzione in queste specie. Anche nei topi è presente FoxP2, in particolare la sua espressione aumenta nel nucleo genicolato mediale del talamo a seguito di stimolazione uditiva (Scharff e Petri, 2011). I topi con ridotto FoxP2 mostrano plasticità alterata nello striato e difficoltà di apprendimento motorio (Bolhuis et al., 2010).

E' stato proposto che FoxP2 e gli elementi che regola siano uno dei fattori limitanti che hanno incanalato l'evoluzione dell'apprendimento vocale verso i risultati comuni nei diversi taxa (Scharff e Petri, 2011).

3.2 SLIT-ROBO

I recettori Robo sono molecole di adesione di tipo immunoglobulinico (IgCAMs) e sono quindi in grado di formare legami sia omofili sia eterofili (Ypsilanti et al., 2010). Le cellule neuronali della maggior parte dei vertebrati presentano tre recettori Robo (Ypsilanti et al., 2010). I loro principali ligandi sono le glicoproteine Slit, scoperte in *Drosophila* e rinvenute in seguito in molte altre specie. Esistono tre diversi geni di Slit, tutti espressi nel sistema nervoso e in diversi organi (Ypsilanti et al., 2010). Nei mammiferi, queste molecole si occupano della formazione delle proiezioni talamo-corticali, dello sviluppo delle formazioni commissurali interemisferiche (in particolare il corpo calloso), della migrazione dei neuroni negli strati della corteccia e della ramificazione dendritica

(Wang et al., 2015, Blockus e Chédotal, 2014). Slit e Robo funzionano principalmente tramite meccanismo repulsivo (Ypsilanti et al., 2010).

Per quanto riguarda l'apprendimento vocale sono importanti per la formazione della connessione diretta tra motoneuroni e prosencefalo: RA e i suoi analoghi (negli uccelli) ed LMC (negli umani) presentano downregulation di SLIT1 a qualsiasi età (escluse le femmine adulte negli uccelli) (Pfenning et al., 2014, Wang et al., 2015). Nei pappagalli, AAC (analogo di RA) è costituito da una regione centrale che si collega a nXII_{ts} e una regione periferica che si connette ad altri nuclei vocali; solo la prima presenta downregulation di Slit1 (Wang et al., 2015).

I motoneuroni esprimono Robo1 e 2, ma la mancata espressione di Slit nell'arcopallium impedisce la repulsione e permette la formazione della connessione (Wang et al., 2015). L'espressione di Robo1 nell'RA (e analoghi) inizialmente non è differenziata, comincia a subire modifiche in periodi critici per l'apprendimento vocale; nei maschi dei passeriformi intorno al 35° giorno d'età c'è un picco di sovra-espressione seguito da downregulation; è interessante notare che colibrì e pappagalli applicano invece upregulation (Wang et al., 2015). Per concludere, Ai presenta un'espressione di Robo1 maggiore rispetto al resto dell'arcopallium in tutti e tre gli ordini e anche negli uccelli privi di apprendimento (Wang et al., 2015). Mutazioni di ROBO1 sono associate ad autismo, dislessia e disordini nella produzione di suoni, in particolare certe consonanti (Wang et al., 2015, Pfenning et al., 2014).

Negli animali privi di apprendimento vocale (e quindi anche di tale connessione) l'arcopallium non presenta downregulation, solo i macachi mostrano un livello d'espressione di Slit1 leggermente più basso nella corteccia motoria primaria rispetto alle regioni circostanti (Pfenning et al., 2014).

3.3 Parvalbumina

La parvalbumina (PV) è una proteina legante il calcio e appartenente alla famiglia delle albumine. Con l'utilizzo di ibridiazioni in situ si è visto che PV è espressa significativamente di più nei nuclei vocali del circuito motorio (RA, HVC) rispetto alle zone circostanti (come iA, l'arcopallium intermedio) in tutti e tre i gruppi di uccelli con apprendimento vocale. Inoltre, tale differenza d'espressione manca completamente negli animali privi di tale carattere (esperimenti compiuti su quaglie e colombi) (Hara et al., 2012).

Per quanto riguarda i motoneuroni (nXII), omologhi in tutta la classe, negli ordini con apprendimento vocale si è visto che è presente un'espressione maggiore di PV rispetto agli animali senza apprendimento, in cui l'espressione di PV è appena percettibile. Nei colibrì, che a prima vista sembravano dissociarsi da oscini e pappagalli si è trovato che nella parte mediale le cellule esprimono pochissima parvalbumina, mentre in quella laterale la concentrazione aumenta in maniera significativa (Hara et al., 2012). Sono state date due diverse spiegazioni alle concentrazioni di PV rinvenute nei motoneuroni: 1) negli animali con

apprendimento vocale si è evoluta in maniera convergente una up-regulation dell'espressione di PV; 2) potrebbe essere presente una down-regulation convergente negli animali privi di apprendimento, dato che nXII_{ts} mostra un'espressione di PV più bassa di SSp soltanto in questi animali (Hara et al., 2012).

Allo stesso modo negli umani si è trovata una sovra-espressione di PV nei neuroni motori che controllano i movimenti della lingua (nXII) rispetto alle zone limitrofe, sovra-espressione che manca nei macachi (Hara et al., 2012). Nell'uomo circa il 90% delle cellule del nXII presenta alti livelli di PV contro il 15% del macaco (che ha comunque concentrazioni di PV più alte rispetto agli uccelli privi di apprendimento) (Hara et al., 2012).

A livello pratico la sovra-espressione di PV potrebbe significare che la produzione di vocalizzazioni apprese richiede un utilizzo maggiore di calcio come segnale nelle vie di trasduzione o come prodotto secondario dell'attività neurale (Hara et al., 2012, Wang et al., 2015). Il calcio in grandi quantità è tossico per la cellula e la parvalbumina agisce da neuro protettore legandosi. Il fatto che sia sovra-espressa garantisce una maggiore protezione, permettendo un maggior numero di vocalizzazioni e, potenzialmente, una maggiore plasticità vocale e di apprendimento (Hara et al., 2012).

4. Ipotesi evoluzionistiche

4.1 Ipotesi qualitative e ipotesi continua

E' interessante notare che ogni gruppo in cui è presente apprendimento vocale è affiancato da gruppi in cui questo carattere è assente. Negli uccelli, come si può vedere in Figura 4.1, si trova nell'ordine degli Oscini (Passeriformi) ma non nel sister group dei Suboscini (Tyranni), tra gli Apodimorfi invece si trova nella famiglia dei Trochilidi (i colibrì) ma non in quella degli Apodidi, e via dicendo.

Sono state formulate diverse ipotesi per cercare di spiegare questo fenomeno e tra le più accreditate si trovano le seguenti tre (Jarvis, 2006):

- 1) i circuiti si sono evoluti indipendentemente in ciascuno dei gruppi con apprendimento vocale;
- 2) il carattere è comparso nella storia evolutiva solo due volte: una volta negli uccelli e una nei mammiferi; in seguito ci sono state una serie di perdite secondarie ed è stato mantenuto solo nei gruppi in cui lo troviamo oggi;
- 3) la maggior parte di rettili, uccelli e mammiferi presenta un minimo di apprendimento vocale e alcuni gruppi hanno amplificato in maniera indipendente questo tratto preesistente.

Nei primi due casi si parla di ipotesi qualitative in quanto il carattere è presente o assente in maniera dicotomica, ipotesi sostenuta dal fatto che gli animali capaci

solo di vocalizzazioni innate sono privi dei circuiti specializzati deputati all'apprendimento vocale; nell'ultimo caso si parla di ipotesi continua dato che l'apprendimento vocale si ritroverebbe nella maggior parte degli animali secondo un continuum di categorie, con mimi vocali e specie completamente prive di apprendimento ai due estremi (Arriaga et al., 2012). Diversi studi hanno provato che esiste più variabilità a livello comportamentale di quella prevista dalle ipotesi qualitative, con diverse specie che mostrano flessibilità vocale o forme limitate di apprendimento (ad esempio i topi) (Petkov e Jarvis, 2012). Al momento tuttavia sono stati trovati nuclei riconducibili a nuclei vocali solo in pochissime specie tradizionalmente considerate incapaci di apprendimento vocale (Wang et al., 2015; Arriaga et al., 2012).

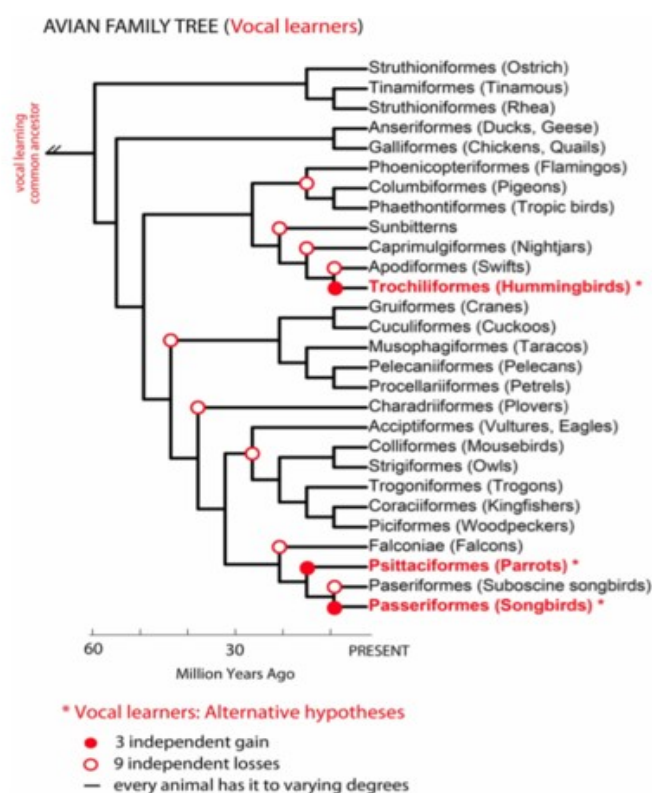


Figura 4.1

comportamenti complessi abbiano un numero molto limitato di modi per evolvere, come si è già potuto osservare anche per altre capacità (Bolhuis et al., 2010). Un esempio è la vista, con l'evoluzione convergente del gene codificante l'opsina, responsabile dell'assorbimento della luce e trovabile in diverse linee di vertebrati e Pax6 per lo sviluppo degli occhi in molluschi, insetti e vertebrati (Bolhuis et al., 2010, Pfenning et al., 2014, Scharff e Petri, 2011).

Nel caso in cui il carattere sia stato perso secondariamente (9 volte solo nella classe degli uccelli!) si potrebbe supporre che ci siano delle forti pressioni selettive che agiscono contro il mantenimento dell'apprendimento vocale; lo stesso nel caso in cui il carattere sia diffuso ma non manifesto, secondo l'ipotesi

Se veramente si è trattato di evoluzione convergente l'aspetto più affascinante è che in animali il cui ultimo antenato comune è vissuto 68 milioni di anni fa (per gli uccelli) o 310 milioni di anni fa (uccelli e umani), i nuclei, i collegamenti neurali che presiedono all'apprendimento vocale e i geni responsabili, seppur non identici sono tuttavia molto simili. Ciò potrebbe suggerire che i

continua (Jarvis, 2006).

4.2 Pressioni selettive

Alla base dell'apprendimento vocale stanno delle vie neurali specifiche la cui produzione si assume essere costosa. Conseguentemente tale capacità deve garantire dei benefici che compensino i costi di produzione, altrimenti sarebbe soltanto una spesa per l'individuo e la selezione l'avrebbe già eliminata favorendo gli esemplari privi di tali costi aggiuntivi (Nowicki e Searcy, 2014).

Alcuni dei fattori che favoriscono il mantenimento dell'apprendimento vocale hanno luogo solo quando una buona parte della popolazione presenta già il carattere (Nowicki e Searcy, 2014). Ad esempio il riconoscimento di individui tramite firme uniche o la comunicazione semantica, in cui un oggetto o un pericolo viene identificato da un suono o una serie di suoni ben precisi. L'utilizzo delle firme però è stato provato al momento solo negli esseri umani e nei delfini tursiopi, anche se i pappagalli emettono dei corti richiami “di contatto” peculiari di ogni individuo (Nowicki e Searcy, 2014). C'è da notare che pure negli animali privi di apprendimento vocale è presente il riconoscimento degli individui tramite la voce. Lo stesso dicasi per la comunicazione semantica, dove la produzione di un suono innato viene associata ad uno specifico stato come ad esempio “predatore in avvicinamento”. Anche gli uccelli con apprendimento vocale usano spesso suoni innati per indicare i pericoli (Jarvis, 2006). Questi fattori, inoltre, non spiegano cos'ha favorito l'iniziale diffusione dell'apprendimento vocale dato che richiedono la presenza di altri individui con tale abilità per ottenere un vantaggio (Nowicki e Searcy, 2014).

L'utilizzo principale delle vocalizzazioni apprese riguarda la difesa del territorio e l'attrazione di partner. Le variazioni introdotte nel canto rendono l'animale più appariscente e appetibile ad una possibile compagna rispetto ai canti ripetitivi innati: a questi un ipotetico partner si abituerebbe più facilmente mentre l'introduzione di una variante richiama l'attenzione (Nowicki e Searcy, 2014). Le femmine di diverse specie preferiscono i maschi in grado di produrre canti più complessi e diversificati come è stato dimostrato in alcuni studi: già nel 1996 Richard Zann, un ornitologo australiano, ha confrontato uccelli in cattività con i conspecifici allo stato brado ed ha visto che, col passare delle generazioni e in mancanza di predazione, la sintassi dei canti diventava più complessa senza che l'uomo selezionasse il carattere (Jarvis, 2006). Inoltre le femmine, sia addomesticate che selvatiche, preferivano maschi con un repertorio canoro più vario (Jarvis, 2006). In uno studio del 2002 effettuato da Kazuo Okanoya, si è dimostrato che le femmine selvatiche di *Lonchura striata* preferiscono i canti più variegati dei maschi di *Lonchura striata domestica*. E' inoltre interessante notare che le femmine, in diverse specie di oscini e pappagalli, oltre a non apprendere vocalizzazioni mostrano nuclei vocali atrofizzati (Feenders et al., 2008). La selezione sessuale potrebbe quindi aver fornito la spinta iniziale alla diffusione del carattere (Jarvis, 2006, Nowicki e Searcy, 2014).

Un altro aspetto da considerare è la trasmissione del suono: animali che vivono in un certo ambiente producono canti della frequenza che meglio si adatta al loro habitat. Ad esempio un piccione emette suoni a bassa frequenza che viaggiano bene vicino al suolo e male ad altitudini più elevate (Jarvis, 2006). Il poter variare la frequenza del canto, nel corso della vita o di varie generazioni, è vantaggioso nel caso in cui il proprio habitat cambi e assicura una migliore comunicazione intraspecifica in ambienti diversi (Jarvis, 2006). Non solo, ma assicura all'individuo in grado di farsi sentire meglio dai suoi conspecifici un vantaggio immediato che potrebbe anche spiegare l'origine dell'apprendimento vocale, dato che non necessita la presenza di apprendimento negli ascoltatori (Nowicki e Searcy, 2014).

Per quanto riguarda gli uomini invece, una delle possibili spiegazioni alle decine di migliaia di suoni che siamo in grado di produrre si basa sulla selezione parentale e la condivisione di informazioni (Nowicki e Searcy, 2014). Le prime linee di ominidi con apprendimento vocale sarebbero state avvantaggiate da una migliore comunicazione che avrebbe loro consentito di affermarsi e soppiantare gruppi privi di tale carattere (Nowicki e Searcy, 2014).

Passando ai fattori che potrebbero selezionare contro l'apprendimento vocale, un forte elemento da considerare è la predazione. La variabilità, che rende più appariscenti nei confronti di possibili partner, potrebbe funzionare anche con i predatori. Le variazioni introdotte nelle canzoni richiamano l'attenzione, mentre le vocalizzazioni innate, più costanti, tendono a svanire nel background e richiedono uno sforzo di concentrazione attivo da parte del predatore per rintracciarne l'origine. Per poter sviluppare apprendimento vocale bisognerebbe quindi o non avere predatori naturali o avere una pressione predatoria rilassata. La maggior parte degli animali in cui è stata provata la presenza di apprendimento vocale si trovano all'apice della catena alimentare, come esseri umani, delfini e orche. Gli elefanti non hanno predatori naturali, solo i cuccioli vengono occasionalmente predati. Negli uccelli, quelli che presentano il carattere sono o ottimi evasori come i colibrì o attuano tattiche di mobbing che risultano efficaci contro la maggior parte dei pericoli (Jarvis, 2006).

4.3 Possibili origini anatomiche delle vie nervose

Una delle ipotesi più accreditate che spiega l'origine dei circuiti neurali deputati all'apprendimento vocale si basa sull'osservazione che, sia in animali che presentano il carattere, sia in quelli dove manca, è presente un circuito di controllo motorio nelle stesse zone (Hara et al., 2012). Si è infatti visto che quando l'animale compie determinati movimenti (ad esempio i saltelli prima del volo o il frullio delle ali), si attivano sette aree nel prosencefalo che circondano i nuclei vocali degli animali con apprendimento vocale e presentano connessioni simili a quelle che abbiamo visto nel capitolo 2 (Feenders et al., 2008). Ad esempio,

l'arcopallium intermedio (iA) che affianca RA presenta un collegamento diretto con i neuroni del tronco encefalico e della formazione reticolare, i quali innervano i motoneuroni che controllano i muscoli deputati al movimento del corpo (Hara et al., 2012). I sette nuclei motori sono inoltre organizzabili in un circuito anteriore e uno posteriore, collegati tra loro quasi come i circuiti vocali (Feenders et al., 2008). E' stato ipotizzato che il circuito posteriore controlli la produzione dei movimenti mentre quello anteriore sia responsabile del sequenziamento degli stessi e forse anche del loro apprendimento (Feenders et al., 2008). Nelle specie che hanno solo vocalizzazioni innate sono state trovate le stesse aree motorie ma senza i nuclei vocali affianco (Petkov e Jarvis, 2012).

La teoria motoria per l'origine dell'apprendimento vocale sostiene che i sistemi che controllano tale capacità si siano evoluti come specializzazione di un circuito motorio preesistente ereditato da un antenato comune (Feenders et al., 2008). Questo circuito motorio sarebbe stato duplicato indipendentemente da oscini, pappagalli e colibrì e, dopo aver formato connessioni con i nuclei responsabili delle vocalizzazioni innate (presenti in tutti gli animali), avrebbe assunto nuove funzioni (Feenders et al., 2008). La stessa cosa avviene in scala più piccola quando, a seguito di duplicazione, la copia di un gene non più soggetta alle stesse pressioni selettive può accumulare mutazioni casuali e, con un po' di fortuna, acquisire nuove funzioni (Feenders et al., 2008).

Altre teorie sostengono invece che l'origine dei nuclei vocali (sia per gli uccelli che per gli umani) sia da ricercare o in un circuito uditivo preesistente o in un sistema uditivo-motorio oppure in un sistema cognitivo non motorio (Feenders et al., 2008). A sostegno della prime due ipotesi ci sono le osservazioni che i quattro nuclei posteriori degli oscini sono adiacenti al circuito uditivo e mostrano connessioni simili; che nei pappagalli il nucleo NLC (analogo di HVC) è circondato da neuroni che reagiscono a stimoli uditivi e che a seguito dell'ascolto di canzoni tutti i neuroni dei nuclei vocali mostrano attività neurale (Feenders et al., 2008).

Le ipotesi cognitive si basano sull'idea che l'elaborazione del linguaggio avvenga tramite processi cognitivi che sono migliorati nella storia evolutiva e che si affinano durante l'infanzia stessa degli individui (Petkov e Jarvis, 2012). Partono dall'osservazione che gli animali con apprendimento vocale, in primis l'uomo, mostrano anche capacità cognitive avanzate (come memoria, attenzione e apprendimento migliorato). Secondo questa teoria tutti gli animali potrebbero avere apprendimento vocale e il fattore limitante sarebbe la loro capacità di sostenere processi cognitivi (Petkov e Jarvis, 2012).

5. Conclusioni

La spiegazione più diffusa per le convergenze comportamentali ed anatomiche che si riscontrano negli uccelli e negli uomini per l'apprendimento vocale sostiene che queste siano una conseguenza di quelle molecolari. Un'ipotesi sostenuta da molti scienziati è che le convergenze molecolari in specie separate più di 300 milioni di anni fa siano una prova del fatto che caratteri complessi abbiano un limitato numero di possibilità con cui poter evolvere.

Il fatto che negli uccelli i nuclei costituenti il circuito dell'apprendimento si trovino nelle stesse regioni (talamo-striato-pallium) e che anche l'organizzazione in circuito anteriore e posteriore sia la stessa favorisce l'ipotesi che sia stato sfruttato un circuito esistente già nel loro ultimo antenato comune (Feenders et al., 2008). Questa idea aiuterebbe anche a spiegare le convergenze molecolari riscontrate. Le somiglianze che si trovano tra uccelli e mammiferi potrebbero forse indicare che è stato sfruttato un circuito motorio presente ancor prima che la storia evolutiva di uccelli e mammiferi si separasse (Feenders et al., 2008). Ulteriori studi saranno necessari per confermare o smentire queste ipotesi.

La maggior parte degli animali considerati privi di apprendimento vocale non sono stati esaminati rigorosamente; l'idea che questo carattere potesse essere espresso più o meno intensamente nelle diverse specie è piuttosto recente, quindi dove il carattere non era evidente si è spesso data per scontata la sua assenza senza che questa venisse provata (Petkov e Jarvis, 2012). Le ricerche degli ultimi anni stanno però dimostrando che l'apprendimento vocale è più diffuso di quanto inizialmente pensato. Capire se gli animali con apprendimento vocale ridotto presentano nuclei vocali, e in tal caso quali, sarebbe di grande aiuto per comprendere come si è evoluto questo carattere.

Resta ancora molto da scoprire anche per quanto riguarda i geni responsabili dell'apprendimento vocale, come questi regolino lo sviluppo dei circuiti e la produzione di vocalizzazioni. Il sequenziamento del genoma del diamantino nel 2010 ha fornito una spinta agli studi di genetica ma si sa ancora poco delle altre specie; al momento solo poche ricerche hanno confrontato animali che presentavano il carattere. L'esame dei punti in comune aiuterebbe a comprendere come funziona l'apprendimento.

E' chiaramente difficile studiare le vie nervose negli esseri umani. La scoperta che negli uccelli canori le vie deputate all'apprendimento vocale siano simili e che anche a livello molecolare ci siano convergenze evolutive rende possibile studiare il linguaggio per via sperimentale, usando gli uccelli come organismi modello. Si può cercare di capire il funzionamento di geni importanti nel linguaggio umano negli oscini e, viceversa, lo studio del canto negli uccelli può aiutare a far chiarezza sul funzionamento del nostro linguaggio (Bolhuis et al., 2010). Comprendere i meccanismi alla base dell'apprendimento vocale aiuterà a trovare soluzioni per curare i disturbi del linguaggio (Petkov e Jarvis, 2012) e inoltre a comprendere maggiormente il funzionamento del cervello.

Bibliografia

1. Arriaga et al., (2012) Of mice, birds and men: the mouse ultrasonic song system has some features similar to humans and song-learning birds. *PLoS ONE* **7(10)**: e46610.
2. Blockus H. e Chedotal A., (2014) The multifaceted roles of Slits and Robos in cortical circuits: from proliferation to axon guidance and neurological diseases. *Current Opinion in Neurobiology* **27**: 82-88.
3. Bolhuis JJ et al., (2010) Twitter evolution: converging mechanisms in birdsong and human speech. *Nature Reviews Neuroscience* **11**: 747-759.
4. Feenders G. et al., (2008) Molecular mapping of movement-associated areas in the avian brain: a motor theory for vocal learning origin. *PLoS ONE* **3(3)**: e1768.
5. Hara E. et al., (2012) Convergent differential regulation of parvalbumin in the brains of vocal learners. *PLoS ONE* **7(1)**: e29457.
6. Jarvis ED., (2006) Selection for and against vocal learning in birds and mammals. *Ornithological Science* **5**: 5-14.
7. Jarvis ED., (2006) S01-5 Evolution of brain structures for vocal learning in birds: a synopsis. *Acta Zoologica Sinica* **52**(Supplement): 85-89.
8. Petkov C. e Jarvis ED., (2012) Birds, primates, and spoken language origins: behavioral phenotypes and neurobiological substrates. *Frontiers in Evolutionary Neuroscience* **4(12)**: 1-24.
9. Nowicki S. e Searcy WA., (2014) The evolution of vocal learning. *Current Opinion in Neurobiology* **28**: 48-53.
10. Pfenning A. et al., (2014) Convergent transcriptional specializations in the brains of humans and song-learning birds. *Science* **346(6215)**: 1256846-1, 1256846-13.
11. Scharff C. e Petri J., (2011) Evo-devo, deep homology and FoxP2: implications for the evolution of speech and language. *Philosophical Transactions of the Royal Society* **366**: 2124-2140.
12. Wang R. et al., (2015) Convergent differential regulation of SLIT-ROBO axon guidance genes in the brains of vocal learners. *The Journal of Comparative Neurology* **532**: 892-906.
13. Ypsilanti A.R. et al., (2010) Moving away from the midline: new developments for Slit and Robo. *Development* **137**: 1939-1952.