



Universidade de Brasília
Instituto de Ecologia
Departamento de Ecologia

A coloração estrutural em tizius (*Volatinia jacarina*, Aves: Emberezidae): influência do meio social e aspectos da qualidade individual.



Luiza Brasileiro Reis Pereira

Orientadora: Regina H. F. Macedo

Dissertação apresentada ao Departamento de Ecologia da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ecologia

Brasília, 2009



Universidade de Brasília
Instituto de Ecologia
Departamento de Ecologia

A coloração estrutural em tizius (*Volatinia jacarina*, Aves: Emberezidae): influência do meio social e aspectos da qualidade individual.

Luiza Brasileiro Reis Pereira

Orientadora: Regina H. F. Macedo

Dissertação apresentada ao Departamento de Ecologia da Universidade de Brasília, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ecologia

Brasília, 2009

LUIZA BRASILEIRO REIS PEREIRA

A coloração estrutural em tizius (*Volatinia jacarina*, Aves: Emberezidae):
influência do meio social e aspectos da qualidade individual.

Dissertação aprovada junto ao Programa de Pós Graduação em Ecologia da Universidade
de Brasília como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ecologia.

Banca Examinadora:

Profa. Regina H. F. Macedo
Orientador – UnB

Prof. Juan Carlos Reboreda
Membro Titular – UBA

Profa. Marina Anciães
Membro Titular – INPA

Prof. Miguel Â. Marini
Suplente - UnB

Brasília, março de 2009

Sumário

Agradecimentos.....	iii
Resumo.....	v
Abstract.....	vi

Capítulo 1: Influência do meio social na plumagem de coloração estrutural do

tiziu.....	1
INTRODUÇÃO.....	1
METODOLOGIA.....	5
Sujeitos.....	5
Desenho experimental.....	6
Coletas.....	7
Características da coloração.....	9
Análises estatísticas.....	11
Dados descritivos.....	8
RESULTADOS.....	14
DISCUSSÃO.....	20
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	29

Capítulo 2: A plumagem estrutural do tiziu relacionada a contextos de mortalidade e reprodução: um experimento oportunístico.....35

INTRODUÇÃO.....	35
METODOLOGIA.....	38
Sujeitos.....	38
Condições experimentais.....	39

Coletas e espectrofotometria.....	40
Características da coloração.....	41
Análises estatísticas.....	42
Dados descritivos.....	43
RESULTADOS.....	45
Dados descritivos.....	46
DISCUSSÃO.....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51

Agradecimentos

Agradecimentos, a melhor parte. Ao menos é a única onde eu posso me dar a liberdade de escrever sem citar ninguém. Por outro lado, também devo assumir toda a responsabilidade do que está aqui escrito, e, portanto, culpo, não a mim mesma, mas à minha memória de passarinho (é a convivência...) caso falte algum nome específico aqui. Mas vou me esforçar para que isto não aconteça.

Antes de qualquer coisa, gostaria de agradecer à minha orientadora, Regina Macedo, por quem aprendi a ter um enorme carinho e respeito durante este tempo de convivência. Uma pessoa, sem dúvidas, admirável como professora, orientadora, e como ser humano. Acredito que poucos têm a sorte de ter como “chefe” um profissional tão completo e competente como ela.

Seguindo o fluxo natural, gostaria de agradecer também ao Alexandre Dias, Davi Cho, Débora Goedert, Eduardo Santos, João Victor, Lílian Manica, Marcos Lima, Paulo Henrique Veloso, Raphael Dias, Rogério Cansi e a todos os meus colegas de laboratório, inclusive os novos e os que já passaram, pelas conversas, discussões (às vezes até um pouco enérgicas demais =), mas acima de tudo pelo companheirismo.

Ao Roberto Lacava, companheiro de projeto, que traçou toda a trajetória “tiziúsiana” junto comigo, dividindo as complicações e as soluções em todas as fases deste projeto. Aqui, tive o verdadeiro significado de como um trabalho em conjunto pode funcionar bem, desde que ambos saibam respeitar a opinião, as limitações e, especialmente, o esforço de cada um.

Ao Rafael Maia, consultor estatístico e de assuntos aleatórios, que sempre se mostrou absolutamente prestativo a ajudar, não só a mim, mas a todos no laboratório. Aliás, mais do que se dispor a ajudar, ele realmente vestia a camisa de cada um que solicitava sua ajuda, transformando, diversas vezes, o nosso desafio no seu.

Aos meus grandes amigos (Fabrícus Maia e Henrique Valadão) que me acompanham desde a graduação até aqui, pelos almoços de quarta-feira e ótimos momentos de descontração ao longo destes anos, e aos demais colegas da pós, por me ajudarem a ter uma visão muito mais ampla e completa do que é o estudo da Ecologia.

Às minhas amigas concurseiras: Carol, Gabi, Kamila, Karina, Lara e Lu que têm me ajudado muito a conciliar interesses e aproveitar da melhor forma possível o pouco tempo que tenho disponível para investir em outras áreas do conhecimento.

Às minhas grandes amigas-irmãs-companheiras que acompanham a minha vida, em maior ou menor grau, desde 1º (Marcela), 2º (Tháís) e 3º (Raquel) graus. Vocês são,

sem dúvida, os maiores exemplos que eu tenho de que amizade de verdade existe. “Mesmo que o tempo e a distância digam ‘não’”. Mesmo que os caminhos mudem, mesmo que os interesses mudem, mesmo que a gente mude. Porque, quando é para sempre, os sentimentos desconhecem fronteiras.

Às minhas outras amigas-irmãs-companheiras que convivem comigo no dia-a-dia, agüentando meu mau humor ou dividindo as alegrias. Ana Ravena, Paula, Sarah e Taís, são pessoas batráquias, estrogonoficamente sensíveis e que merecem todo o meu respeito tecnológico. Muito mais do que estarem presentes na mesma casa que eu, elas fazem cada dia da minha rotina se transformar em um dia especial.

Ao meu namorado, Rodrigo Dias, pela ajuda nas traduções, mas, acima de tudo, pelo carinho, atenção e companheirismo. Sua praticidade e objetividade em encarar os problemas contagiam, e a sua simples presença na minha vida deu a ela exatamente a tranqüilidade que eu precisava.

À tia Lúcia, tio Tantino, tio Jeré, Marinês, Daniel, Igor, Ricardo, Rodrigo, Zé Helder, e à toda minha família brasiliense que me acolheu de braços abertos desde o primeiro momento e sempre foram ótimos companheiros.

Aos meus irmãos Renata, Ivana e Mateus e cunhado(a)s que, perto ou longe, sempre fizeram e fazem parte da minha vida, me apoiando em todos os sentidos, ou simplesmente dando bons exemplos para a irmã caçula... => Ao Enrico, aquele projeto de gente que, mesmo sem saber, já ocupa um espaço tão grande no coração de todos nós. Dizem que os amigos são a família que nos são permitidos escolher. Pois bem, se eu pudesse escolher também minha família... não mudaria absolutamente NADA.

Aos meus pais. O que eu posso dizer? Simplesmente as pessoas mais importantes na minha vida, sem as quais eu não teria chegado absolutamente em lugar nenhum. Muito mais do que traçar um caminho pra gente, eles sempre deram as diretrizes para que nós mesmo traçássemos nosso próprio caminho. Muito mais que aceitar nossas decisões, eles procuravam sempre apoiar e entender nossos motivos. Mesmo longe, sempre me acompanharam de perto em todas as fases da minha vida. Amo muito vocês.

Por último, mas não menos importante, gostaria de agradecer à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior), pela bolsa de estudos concedida durante estes dois anos de projeto, ao Programa de Pós-Graduação em ecologia pelo apoio logístico, e à Marina Anciães e Juan Reborada por terem aceitado participar da minha banca de defesa.

Resumo

Ornamentos coloridos exercem um importante papel na comunicação visual em muitas espécies de aves. Existem basicamente dois tipos de coloração conhecidas: pigmentária e estrutural. Nos últimos anos vários estudos vêm demonstrando que a coloração estrutural é mais variável do que se supunha, e têm sido observadas em diversas espécies relações entre a coloração estrutural, qualidade individual e influência do meio ambiente. O presente estudo, utilizando-se do tiziu (*Volatinia jacarina*), um passeriforme cujos machos adquirem uma plumagem estrutural preto-azulada durante a estação reprodutiva, como espécie-modelo, teve como objetivos: (1) testar a influência do meio social ao longo do tempo na plumagem estrutural dos machos de tiziu; (2) relacionar as características de tal plumagem com a mortalidade e sucesso reprodutivo dos indivíduos. Para o primeiro objetivo, os indivíduos foram alocados em diferentes grupos sociais e monitorados durante o período de um ano onde foram acessadas características da sua plumagem estrutural. Para o segundo, comparou-se as características de plumagem de indivíduos que morreram *versus* sobreviveram, assim como as dos indivíduos que reproduziram *versus* não reproduziram. Ambos os experimentos foram desenvolvidos em cativeiro. Os resultados encontrados sugerem que existe influência do meio social no desenvolvimento da plumagem nupcial estrutural do tiziu e que esta influência parece estar relacionada especialmente com o aspecto intra-sexual. Por outro lado não houve diferença na plumagem de indivíduos que sobreviveram ou reproduziram em relação aos demais, sugerindo que tais características da plumagem nupcial apresentam importante relação proximal de regulação, e que o esforço reprodutivo, nas condições as quais o experimento se desenvolveu, não deve ter sido um fator limitante para os indivíduos.

Palavras – chave: expressão de cores, plumagem nupcial, grupos sociais, mortalidade, sucesso reprodutivo.

Abstract

Colored ornaments have an important role on visual communication in many species of birds. There are two basic kinds of coloration: pigmentary and structural. In the past years some studies have demonstrated that structural coloration varies more than supposed. Besides, in a considerable number of species, researchers found some association between structural coloration, individual quality and environmental influences. This study was conducted using the blue-black grassquit (*V. jacarina*) as a model specie, a passerine whose males molt into a blue-black structural coloration during the breeding season. The objective of this study is twofold: (1) to verify the influence of the social environment on the development of structural plumage of males; (2) to assess the relationship between the characteristics of such plumage, mortality and the reproductive success of individuals. For the first objective, individuals were placed in different social groups and monitored during a whole year, when structural plumage characteristics were collected. For the second objective, we compared plumage characteristics of individuals who died *versus* those who survived, as well as plumage characteristics of individuals who reproduced *versus* those who did not reproduce. Both experiments were conducted on captivity. The results suggest there is an influence of social environment on the development of nuptial plumage of tiziu, and this influence seems to be related especially in an intrasexual context. On the other hand, there was no difference on plumage of individuals who survived or reproduced compared to those who died or didn't reproduce, suggesting that certain plumage characteristics could be related to proximal mechanisms of regulation. Additionally, it seems that the reproductive effort was not a limiting factor to individuals in the specific conditions in which the experiment was conducted.

Key words: color expression, nuptial plumage, social groups, mortality, reproductive success.

Influência do meio social na plumagem de coloração estrutural do tiziu

INTRODUÇÃO

Apesar do grande interesse a respeito dos mecanismos de produção de cores e funções desempenhadas por estas no mundo animal, muito do que se sabe é baseado em inferências indiretas (Osorio & Vorobyev, 2008). No grupo das aves, a grande maioria das espécies apresenta visão tetracromática e uma discriminação intensificada dos comprimentos de onda mais curtos (Cuthill *et al.*, 2000), além de uma grande diversidade de conspícuos ornamentos coloridos, sugerindo um papel importante da coloração na comunicação visual deste grupo.

A plumagem em aves é uma das características selecionadas sexualmente mais bem estudadas em animais (McGraw, 2002), sendo suas cores brilhantes consideradas um exemplo clássico da expressão de padrões extremos que surgiram através da seleção sexual (Darwin, 1871). Tais cores brilhantes, especialmente em machos, têm sido consideradas como modelos ideais para investigar os diferentes tipos de informação que podem ser transmitidos por características ornamentais (Hill & McGraw, 2006).

A coloração de plumagem na maioria das aves aparece em duas formas distintas: pigmentária (incluindo as baseadas em carotenóides e melanina) ou estrutural (Hill & Keyser, 1999). Cores pigmentárias são aquelas que resultam da absorção e emissão molecular de luz. O matiz (tom) de uma cor produzida por este tipo de mecanismo é determinado pela estrutura molecular do pigmento e sua densidade no tecido (Andersson & Prager, 2006; McGraw, 2006). Em contraste, coloração estrutural resulta de interações físicas das ondas de luz que são espalhadas em interfaces de materiais orgânicos de diferentes índices de refração (Prum, 2006).

A coloração estrutural é um componente importante da aparência da plumagem, pele e íris de muitas espécies, e está amplamente distribuída dentre as aves (Prum & Torres, 2003). Poucos estudos foram desenvolvidos sobre as possíveis funções da coloração estrutural, mas o interesse por este tipo de coloração cresceu consideravelmente com a descoberta de que a maioria das aves enxerga bem na faixa do ultravioleta (Bennett & Cuthill, 1994; Cuthill, 2006). De fato, o aumento do uso da espectrofotometria como ferramenta para medir objetivamente a coloração de plumagem tem revelado considerável variação individual na coloração estrutural de aves, especialmente na faixa do ultravioleta (Bennett *et al.*, 1997; Keyser & Hill, 1999; Staffan & Prager, 2006).

As cores estruturais são produzidas pela interação da luz com estruturas nanométricas de diferentes índices de refração (Prum, 2006). Em penas, os arranjos que produzem tais cores são compostos principalmente por combinações de queratina, melanina e ar e, embora alguns destes componentes sejam pigmentos moleculares, as cores produzidas são uma consequência do tamanho, distribuição espacial e índice refrativo dos grânulos de pigmento, não meramente de suas propriedades moleculares (Prum, 2006). A coloração estrutural pode ser produzida através de dois mecanismos de espalhamento da luz: coerente ou incoerente, onde a ordenação espacial das partículas influenciam ou não na cor refletida, podendo o primeiro levar ao fenômeno da iridescência (mudança na aparência da coloração de acordo com o ângulo de observação ou iluminação; Osório & Ham, 2002), e o segundo, o possível responsável pela formação do branco e azuis em alguns animais, incluindo penas (Prum, 2006).

Apesar de provavelmente todas as cores iridescentes serem produzidas pelo mesmo mecanismo básico, há muita variação na estrutura e arranjo das camadas de queratina e melanina e, conseqüentemente, na aparência dessas cores, tanto inter- quanto intra-especificamente (Doucet *et al.*, 2006). O mecanismo exato pelo qual a cor estrutural é produzida e expressa ainda não é totalmente bem estabelecido, no entanto, alguns estudos relataram a existência de correlações entre as características de nanoestrutura da plumagem e as propriedades da coloração (Shawkey *et*

al., 2003; Doucet *et al.*, 2006) acreditando-se que distúrbios de desenvolvimento podem resultar em diferenças na organização das estruturas responsáveis pela produção (Prum 2006), e, conseqüentemente, aparência de tais cores.

De fato, vários estudos têm apontado que tais cores podem ser dependentes do meio ambiente em diversas espécies, (Fitzpatrick, 1998; Keyser & Hill, 1999; Doucet, 2002; McGraw *et al.*, 2002; Johnsen *et al.*, 2003, Hill *et al.*, 2005; Jacot & Kempnaers 2007; Peters *et al.*, 2007; Siefferman & Hill, 2007; Siitari *et al.*, 2007), além de se mostrarem potencialmente relacionadas com mecanismos proximais de regulação (Peters *et al.*, 2000; Kimball, 2006; Hill, 2006, Peters *et al.*, 2007) e passíveis de sofrer modificações mesmo após o desenvolvimento das penas (Shawkey, 2007; Delhey *et al.*, 2007). No entanto, ainda não se sabe se tal fato ocorre universalmente entre as aves e quais seus mecanismos de ocorrência.

Segundo Hill (2006), a expressão de cores estruturais em aves pode ser afetada por fatores ambientais de três tipos: (1) condição nutricional (ver Keyser & Hill, 1999; Doucet, 2002; McGraw, 2002; McGlothlin *et al.*, 2007); (2) parasitas (ver Doucet & Montgomerie 2003; Hill *et al.* 2005; Costa & Macedo, 2005; Shawkey *et al.*, 2007) e (3) ambiente social (ver Pärt & Qvarnström, 1997; Alonso-Alvarez *et al.*, 2004; Senar, 2006), sendo esta última categoria a menos estudada. Os poucos estudos existentes relacionando ambiente social e coloração estrutural dão ênfase à relação da coloração com o status de dominância do indivíduo, havendo grande carência de informação a respeito dos demais aspectos relacionados a contextos sociais (Hill, 2006), como por exemplo, a influência de diferentes conformações de grupos sociais.

A maioria dos artigos que associa coloração estrutural com condições do meio ambiente tem se focado em espécies de aves negras brilhantes, pois a plumagem nestas espécies normalmente apresenta um modelo estrutural que exhibe uma única camada superficial de queratina, o qual parece ser o mais vulnerável à perturbação durante o desenvolvimento do indivíduo (Prum, 2006) e, portanto, ideal para o estudo da influência do meio externo. O tiziu (*Volatinia jacarina*), objeto de estudo do presente trabalho, apresenta exatamente tal característica.

Suas bárbulas são caracterizadas nanoestruturalmente por uma camada mais fina de queratina circundando uma camada de melanina, em geral com a espessura mínima necessária para impedir que as ondas de luz atravessem, sendo estas as duas estruturas as principais responsáveis pela produ o da cor nesta espécie (Maia *et al.*, no prelo). Apesar disto, existe certa varia o interindividual em tais camadas (Maia *et al.*, no prelo) e já foi sugerido que a plumagem estrutural dos machos nesta espécie está associada   sua condi o corporal (Doucet, 2002; Maia, 2008),   idade (Maia, 2008) e   sua carga parasitária, sendo que este fator parece influenciar principalmente nas propriedades espectrais das penas (Costa & Macedo, 2005). Assim, as características da plumagem da espécie-modelo adotada apresentam grande potencial de serem dependentes do meio em vários aspectos.

Menos se sabe a respeito de cores acromáticas, tanto em rela o ao seu mecanismo de forma o quanto em rela o   influência do meio. Acredita-se que a cor branca de plumagem seja produzida a partir de espalhamento incoerente das ondas de luz (Prum, 2006). O custo para a produ o da cor branca parece ser, em geral, muito baixo, e, aparentemente, sua manuten o   o fator mais custoso (Tor k *et al.*, 2003). Alguns estudos vêm demonstrando que porões não pigmentadas da plumagem de aves podem ser indicativas de qualidade e dependentes do meio, tanto em rela o ao tamanho das manchas, quanto em rela o às propriedades espectrais das penas (Tor k *et al.*, 2003; 2003, Doucet *et al.*, 2006; McGlothlin, 2007). Adicionalmente, parecem estar associadas a aspectos evolutivos do display (Galván, 2008), apresentando, portanto, grande potencial de funcionar, de fato, como sinalizadores.

A análise do efeito ambiental sobre os ornamentos sexuais secundários   crucial para entender que tipo de informa o um ornamento pode estar sinalizando (Siefferman & Hill, 2007). Assim, este estudo teve como objetivo usar o tiziu, uma espécie modelo, para analisar como o contexto social pode afetar aspectos da plumagem estrutural nupcial de machos ao longo do tempo. Ornamentos coloridos e conspícuos tais como a plumagem nupcial de aves são freqüentemente associado a um custo (Zahavi, 1975) e o meio social possivelmente exerce uma

influência sobre esse tipo de coloração. McGraw (2003) encontrou, por exemplo, uma relação entre tamanho das manchas peitorais (babadores) e o histórico de competitividade do ambiente social durante o desenvolvimento das penas em pardais (*Passer domesticus*).

Assim, no presente estudo buscou-se testar a hipótese de que indivíduos que realizam a muda em um contexto social de maior competitividade devem investir mais na plumagem nupcial quando comparados a indivíduos inseridos em um ambiente social de baixa competitividade, onde teriam menos necessidade de investir em tal característica. Para isso, foram criadas três categorias de ambientes sociais: pares, grupos só de machos e grupos com vários machos e fêmeas juntos. Na natureza, apesar de socialmente monogâmicos, os machos de tizius defendem territórios tão pequenos que sua estrutura assemelha-se a um *lek* (Murray, 1992; Almeida & Macedo, 2001), onde indivíduos de territórios vizinhos estão em constante contato visual uns com os outros incitando possíveis disputas tanto intra quanto inter sexuais.

Desta forma, a expectativa é que enquanto nos dois primeiros ambientes sociais ou não haveria disputas sexuais (pares) ou haveria disputa apenas intra-sexuais (só machos), o grupo de machos e fêmeas seria um ambiente propício para competição tanto intra quanto intersexual. Como além de possíveis disputas por status ou espaço os machos nestes grupos deveriam disputar também fêmeas, seria esperado que neste ambiente os indivíduos: (1) iniciariam e completariam a muda antes dos demais; (2) manteriam a plumagem nupcial por um período maior de tempo ao longo do ano; (3) exibiriam manchas brancas sub-axilares maiores (já que tais penas também são trocadas durante a muda); (4) apresentariam plumagem de maior qualidade espectral (mais brilhante, intensa e colorida) e (5) teriam uma perda de massa corpórea maior devido ao maior investimento nas características ornamentais da plumagem.

METODOLOGIA

Sujeitos:

O tiziu é um pequeno passeriforme (Emberezidae) granívoro Neotropical cuja distribuição geográfica estende-se do México até a Argentina, Chile e Brasil (Sick, 1997). Fêmeas, jovens e machos fora da estação reprodutiva, são amarronzados com o peito listrado (Alderton 1963, Sick 1997), enquanto os machos durante a estação reprodutiva (aproximadamente novembro a março no Brasil Central) exibem uma plumagem nupcial preto-azulada iridescente com notáveis manchas brancas sub-axilares (Sick, 1997). Este abundante pássaro ocupa regiões abertas e, durante a estação reprodutiva, os machos defendem pequenos e agregados territórios (Murray, 1982) através de uma exibição comportamental (display) que consiste em vocalizações acompanhadas de repetidos saltos com exposição das manchas brancas sub-axilares, desta forma exibindo a plumagem nupcial em vários ângulos de incidência de luz (Webber, 1985). Trata-se de uma espécie que, apesar de socialmente monogâmica, apresenta alto índice de cópula extra par (Carvalho *et al.*, 2006).

Apesar da aparente associação entre a sua plumagem iridescente, seu display e o meio ambiente (Doucet, 2002; Carvalho *et al.*, 2006; Aguilar *et al.*, 2008), pouco se sabe a respeito da influência do contexto social sobre estas características no tiziu.

Desenho experimental:

Para o presente estudo foram capturados, inicialmente, 47 machos e 23 fêmeas, todos adultos, sendo que alguns foram mantidos apenas como “reservas” para as manipulações experimentais. As capturas foram realizadas com redes de neblina entre janeiro e março de 2007 no campus da Universidade de Brasília (15° 46’S; 47° 52’O) e o experimento foi desenvolvido no laboratório de Comportamento Animal na Universidade de Brasília entre agosto de 2007 e agosto de 2008. Machos e fêmeas foram mantidos visualmente isolados em um aviário externo (5m x 10 x 3m) e marcados com anilhas metálicas fornecidas pelo CEMAVE. Todos foram submetidos às mesmas condições de manutenção em cativeiro, incluindo medicamentos contra parasitas, água e comida *ad libitum* até que o experimento fosse efetivamente iniciado.

Em junho de 2007 os indivíduos foram, então, distribuídos aleatoriamente em três diferentes tratamentos: grupos de machos (cada grupo contendo seis tizius machos); grupos mistos (cada grupo contendo três tizius machos e três tizius fêmeas) e casais (contendo um macho e uma fêmea). O propósito dos diferentes tratamentos foi de criar-se um gradiente de hostilidade social estimulando o aumento da competição intra e intersexual entre os sujeitos para averiguar o efeito do ambiente através do tempo sobre os indivíduos. Os grupos foram mantidos em viveiros (2.6m x 1.5m x 2m) enquanto os casais foram alocados em gaiolas (0.55m x 0.30m x 0.38m).

Cada tratamento de grupos continha três réplicas que foram avaliados no experimento, e uma réplica que foi deixada como reserva. Os casais continham nove réplicas que foram utilizadas e duas reservas. As réplicas foram usadas para a substituição de indivíduos que morreram durante o ano de experimentos, ou mesmo quando um grupo inteiro foi perdido. Assim, houve substituição de indivíduos em dois dos grupos de machos (dois em cada, sendo este o número máximo previamente estabelecido de indivíduos passíveis de substituição nesta categoria), em um grupo misto (um sujeito, sendo este o número máximo previamente estabelecido de indivíduos passíveis de substituição nesta categoria) e oito pares nos casais, motivo pelo qual nem todos os meses foram utilizados nas análises. É importante ressaltar que todos os indivíduos que foram adicionados no decorrer do experimento estavam há, pelo menos, dois meses sob condição experimental semelhante a do grupo ao qual foram adicionados.

Devido a alta mortalidade de indivíduos nos três primeiros meses de experimento (11 indivíduos) e a inserção de novos indivíduos a partir do mês de novembro, as análises, tanto estatísticas quanto visuais, foram realizadas separadamente contendo os dados completos (1 ano) e os dados sem os três primeiros meses (agosto/07 a outubro/07). Como houve diferença em algumas das variáveis testadas, achou-se mais sensato descartar os dados de agosto a outubro e as análises e resultados aqui apresentados referem-se, portanto, apenas a 37 indivíduos e aos 9 últimos meses de coleta (novembro/07 – julho/08), os quais, ainda assim, abrangem as transições entre estação reprodutiva e não reprodutiva.

Coletas:

As coletas dos dados para cada um dos machos foram realizadas pelo período de um ano (agosto/07 – agosto/08). A cada mês foram medidos de cada sujeito a massa corpórea e o tamanho do tarso direito para cálculo do índice de massa corporal (IMC; Costa & Macedo 2005, Aguilar *et al.*, 2008); porcentagem de plumagem preto-azulada (PP); área relativa da mancha branca direita em relação à área total da asa (AMB); e coletadas de 3 a 6 penas coberteiras preto-azuladas do dorso e 3 a 6 penas brancas da mancha sub-axilar para análise das suas propriedades de reflectância. Dos valores de tarsos medidos para calcular o IMC, foi utilizada apenas a média de todas as medidas tomadas.

Os valores de massa foram obtidos através de um dinamômetro de mola Pesola® (precisão 0,1g) e as medidas de tarso com o auxílio de um paquímetro digital (precisão 0.01mm). A porcentagem de plumagem preta foi estimada visualmente baseando-se na proporção de plumagem preta que ocupava um pequeno disco transparente de aproximadamente 1.5cm de raio e subdividido em 37 pontos equidistantes 0.5cm uns dos outros, colocando-o sobre a cabeça, peito e dorso do indivíduo. As áreas relativas das manchas brancas foram estimadas utilizando-se o programa ImageJ (versão 1.38, Rasband, W.S, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) através de desenhos das asas e suas respectivas manchas feitos em transparências, os quais foram posteriormente digitalizados. As penas foram coletadas e mantidas em papel laminado protegidas da luz e umidade até a análise das suas propriedades de reflectância, as quais foram feitas com um espectrofotômetro Ocean Optics USB4000 e uma fonte de luz xenônio pulsante PX-2 (Ocean Optics, Dunedin, Flórida), cujo espectro de iluminação fornecido é de 200 – 750nm.

Espectrofotometria:

As análises de espectrofotometria foram realizadas segundo um protocolo desenvolvido no próprio Laboratório de Comportamento Animal da Universidade de Brasília através de pesquisas bibliográficas e vários testes previamente realizados com as penas de outros indivíduos de *V. jacarina*, para se determinar a melhor geometria espacial de medição. Assim, para tais medidas foram utilizadas duas sondas de fibras óticas: uma ligada a uma fonte de luz não polarizada e a outra ao espectrofotômetro, estando ambas acopladas a um suporte de fibras que mantém constante o ângulo entre elas e também a distância das sondas à superfície (aproximadamente 6mm) das penas, além de impedir a entrada de luz externa.

As penas foram, então, colocadas sobrepostas sobre uma superfície escura e opaca (papel veludo preto). Cada uma das sondas foi colocada em um ângulo de 45° da superfície (formando um ângulo de 90° entre as duas), estando o suporte posicionado longitudinalmente em relação às penas e de forma que a sonda de emissão de luz estivesse no sentido distal das ráquis em direção ao cálamo (Figura 1). Este ângulo foi apontado como configuração ideal para captação de espectros mais brilhantes (Osório & Ham, 2002; Santos *et al*, 2007), o que foi confirmado pelos testes realizados com as penas de tiziu. Para cada nova medição de penas e a cada novo indivíduo foi feita a calibragem do aparelho, utilizando-se como referência um branco padrão WS-1-SS (Ocean Optics, Dunedin, Florida) e papel veludo preto.

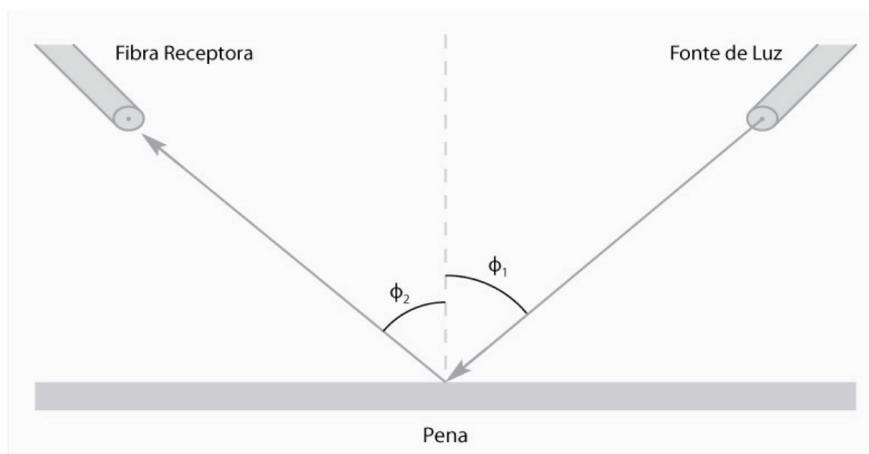


Figura 1. Desenho esquemático da geometria de medição. As medidas tomadas correspondem à $\phi_1 = \phi_2 = 45^\circ$. As penas foram

posicionadas com o cálamo voltado para a fibra da fonte de luz.

A fonte de luz foi acoplada com uma intrusão de 6mm no suporte .

Todas as medidas de espectrofotometria foram feitas utilizando-se o programa SpectraSuite (Ocean Optics, Dunedin, Flórida) padronizando-se os parâmetros de captura de espectros em 20 milissegundos de tempo de integração; média de 50 leituras individuais e correção *boxcar* de 30. As análises foram feitas a partir das médias de três medidas tomadas de cada conjunto de penas, utilizando-se, para tal, apenas a região de 320 – 700nm, que, acredita-se, é a faixa de comprimento de onda visível às aves (Cuthill, 2006; Mullen & Pohland 2008) e interpolando a porção decimal ao número inteiro inferior mais próximo, de modo a reduzir o número de pontos utilizados.

Características da coloração:

As medidas das características de coloração para as penas preto-azuladas podem ser resumidas basicamente por três parâmetros: matiz, brilho e saturação (Montgomerie, 2006; Doucet *et al*, 2006), que podem ser descritos da seguinte forma:

(a) Matiz (λ_{\max}): usualmente o que denominamos de cor ou tom, e que indica qual comprimento de onda mais contribui para a radiação total, sendo representado pelo comprimento de onde de maior reflectância (λ_{\max});

(b) Brilho, que é uma “intensidade espectral”, ou seja, uma medida da quantidade da radiação por unidade de área em um determinado ângulo e saturação, e que foi subdividido em:

(i) Brilho médio (B_{med}): a soma da média do percentual de reflectância em cada comprimento de onda;

(ii) Intensidade: medida da intensidade espectral do comprimento de onda de maior reflectância ($I = R_{\lambda_{\max}}$);

(c) Saturação, que é a “pureza espectral”, ou seja, a contribuição relativa de uma determinada região do espectro, e que foi subdividida em:

(i) Contraste (C): diferença entre a reflectância máxima e mínima ($C = R_{\lambda_{max}} - R_{\lambda_{min}}$);

(ii) Cromo ultravioleta (R_{uv}): contribuição relativa na faixa do ultravioleta em relação à reflectância total ($R_{uv} = R_{320-400nm}/R_{320-700nm}$);

Paras as penas das manchas brancas apenas o brilho médio (MB_{Bmed}) e o croma ultravioleta (MB_{Ruv}) foram utilizados para as análises.

As medidas de saturação no comprimento de onda do ultravioleta foram utilizadas por serem pico de reflectância da maioria dos machos de tizius, além de aparentemente exercer importante papel nas relações sexuais intra-específicas (Bennet & Cuthill, 1994; Alonso & Alvarez (2004); Dias, 2006) e ter um grande potencial evolutivo de funcionar como sinalizador (Osório & Vorobyev, 2008).

Com o objetivo de diminuir a quantidade de parâmetros a serem analisados foi realizada uma análise de componentes principais (PCA, *principal component analysis*) com as cinco variáveis relacionadas às propriedades espectrais da coloração preto-azulada (matiz, contraste, croma ultravioleta, brilho e intensidade). Tais variáveis foram resumidas satisfatoriamente em dois componentes principais (PC1 e PC2), que juntos, correspondem a 94.9% do total da variação explicada, onde o PC1 está relacionado especialmente com aspectos da intensidade da coloração, enquanto o PC2 está mais relacionado a aspectos das propriedades colorimétricas (Tabela 1).

Tabela 1. Coeficientes para os dois componentes principais obtidos através de uma análise de componentes principais utilizando-se as cinco variáveis relativas às propriedade espectrais da plumagem nupcial do tiziu.

Variável	PC1	PC2
B_{med}	0.57	0.12

I	0.58	0.06
C	0.57	-0.01
λ_{\max}	0.01	0.71
R_{uv}	-0.12	-0.69
R_{uv}	-0.12	-0.69
Varição cumulativa explicada	0.58	0.95

Análises estatísticas:

Para a realização das análises, foi verificada a normalidade de distribuição dos resíduos de todos os modelos, transformando as variáveis quando necessário. Além disso, todos os testes foram bicaudais com rejeição da hipótese nula quando $P < 0.05$.

As variáveis resposta utilizadas nos testes foram: o arccosseno da raiz da proporção de plumagem preta (PP_t), os valores de massa corpórea relativa (massa / comprimento do tarso), área relativa da mancha branca (área da mancha branca / área total da asa), os valores de escores para cada uma das observações referentes a cada um dos dois componentes principais gerados para a plumagem nupcial e os valores de brilho médio e croma ultra-violeta para a plumagem branca.

Para testar o efeito do tempo, do tratamento e da interação entre estes dois fatores, foram criados modelos lineares mistos (*linear mixed effects models*, LME, *lmer* no R pacote *lme4*) separadamente para cada uma das variáveis acima citadas. Estes modelos foram desenvolvidos segundo Schielzeth & Forstmeier (no prelo) onde, além do tradicional cuidado com as diferenças interindividuais no ponto de intercepção, é feito também um controle para a falta de independência devido às diferenças entre indivíduos nas inclinações das variações dos sujeitos ao longo das medidas repetidas (neste caso, ao longo do tempo).

Assim, tempo e tratamento foram inseridos como efeitos fixos e a identidade dos indivíduos, bem como o grupo ao qual eles pertenciam dentro de um mesmo tratamento, como

fatores randômicos. A escolha dos modelos era feita comparando-se os modelos completos (com todos os efeitos) e modelos mais simples, primeiro para os fatores randômicos e depois para os fixos.

Para testar a influência dos fatores randômicos na independência dos dados, foram realizadas comparações entre modelos que incluíam a variação individual na resposta ao longo do tempo (modelo de coeficientes randômicos; *random slopes model* – Schielzeth & Forstmeier, no prelo), e a variação de indivíduos em cada grupo com o modelo incluindo apenas a variação individual de cada uma das variáveis supracitadas. Tais comparações foram realizadas baseando-se em testes de razão de verossimilhança (*likelihood ratio test*, LRT), quando foi usado a diferença em *deviance* como uma aproximação de qui-quadrado com graus de liberdade igual à diferença no número de parâmetros estimados (Quinn e Keough 2002). O valor de *deviance* pode ser considerado uma medida de adequação do modelo, sendo que valores mais baixos significam uma melhor aderência do modelo aos dados. Assim, os modelos que consideram ou não cada um dos possíveis casos de independência foram comparados entre si, e quando não havia diferença significativa, os dados foram considerados estatisticamente independentes para aquele parâmetro. Em nenhum caso houve influência dos grupos dentro de cada tratamento na independência dos dados, no entanto, em relação às diferenças interindividuais no intercepto e na inclinação da variação ao longo do tempo, houve necessidade de incluí-los em praticamente todos os modelos (com exceção do modelo relativo a valores de PC1).

Somente após a decisão de quais efeitos randômicos incluir no modelo, era iniciada a análise dos efeitos fixos. Para testar a influência dos efeitos fixos, foram igualmente utilizados LRTs, comparando-se os modelos sem cada um dos efeitos fixos ao modelo completo. Se a remoção do fator não causasse redução significativa no poder explicativo do modelo, este era escolhido por ser o mais simples. O critério aqui utilizado, assim como para testar a influência dos efeitos randômicos, foi a diferença no desvio dos modelos analisados, a qual pode ser considerada

como uma medida de aderência ao modelo, e quanto mais baixo este valor, melhor o ajuste entre os modelos.

Além disso, foram realizadas mais duas análises para variável transformada da porcentagem de plumagem preta. Esta variável apresentou um padrão aproximadamente bimodal de distribuição de frequências (Figura 2) devido à grande quantidade de indivíduos com a plumagem totalmente preto-azulada (33.6% do total de observações), o que poderia camuflar um possível padrão existente em relação ao aumento de tal plumagem ao longo do tempo. Desta forma, foi realizado um outro modelo linear misto apenas com os indivíduos que não haviam realizado muda completa (PP_{inc}) e um modelo linear generalizado (GLM, *generalized linear model*) com função de ligação logit da família binomial. Neste último caso a variável resposta binária foi ter ou não a muda completa (1/0), e as variáveis explicativas, da mesma forma que nas demais análises, tempo e tratamento (PP_{bin}).

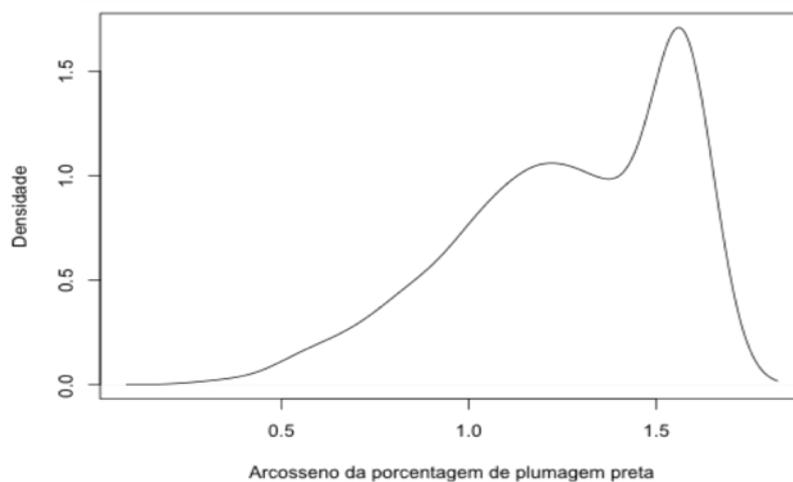


Figura 2. Distribuição de densidade do arcosseno da porcentagem de plumagem preta. Aqui é possível observar a alta quantidade de indivíduos com a plumagem completamente preta.

Todas as análises foram realizadas no software estatístico R (versão 2.8.1, R Development Core Team 2008).

RESULTADOS

Em geral, desconsiderando o efeito do tempo, e levando em contas as médias e desvios padrão dos indivíduos, os três tratamentos tiveram valores relativamente semelhantes para cada uma das variáveis, com os grupos só de machos apresentando uma tendência a maiores valores de índice de massa corporal, porcentagem de plumagem preta e das variáveis espectrais da plumagem preto-azulada relacionadas a brilho e contraste, além de uma tendência a menores valores de matiz, o que indica um pico de reflexão deslocado para os valores de menor comprimento de onda (Tabela 2). Além disso, houve uma leve tendência para os machos dos casais exibirem valores maiores das variáveis espectrais relacionados à mancha branca, e do grupo misto a valores maiores de área relativa da mancha branca (Tabela 2).

Tabela 2. Médias, desvios padrão e o número de indivíduos utilizados (entre parênteses) para as estimativas de cada uma das variáveis originais em cada um dos tratamentos, sem considerar o efeito do tempo. Variáveis utilizadas: índice de massa corporal (IMC), porcentagem de plumagem preta transformada (PP_t), área relativa da mancha branca (AMB), brilho médio (B_{med}), intensidade (I), contraste (C), matiz (λ_{max}), croma ultravioleta (R_{uv}), brilho médio da mancha branca (MB_{Bmed}) e croma ultravioleta da mancha branca (MB_{Ruv}).

Variável	Tratamento		
	Casal	Machos	Misto
IMC (g/cm)	0.52 ± 0.04 (76)	0.54 ± 0.04 (150)	0.53 ± 0.05 (79)

PP _t (%)	79.54 ± 22.42 (77)	87.21 ± 18.11 (150)	86.01 ± 16.62 (79)
AMB	0.23 ± 0.06 (77)	0.24 ± 0.07 (150)	0.25 ± 0.06 (79)
B _{med} (%)	0.11 ± 0.03 (77)	0.13 ± 0.12 (150)	0.11 ± 0.03 (78)
I (%)	14.71 ± 4.61 (77)	17.51 ± 12.62 (150)	14.59 ± 3.84 (78)
C (%)	9.22 ± 2.96 (77)	10.25 ± 5.26 (150)	8.91 ± 2.65 (78)
λ _{max} (nm)	416.72 ± 26.87 (77)	405.47 ± 30.94 (150)	417.55 ± 25.43 (78)
R _{uv} (%)	0.29 ± 0.02 (77)	0.30 ± 0.03 (150)	0.29 ± 0.02 (78)
MB _{Bmed} (%)	0.72 ± 0.11 (74)	0.70 ± 0.11 (132)	0.70 ± 0.09 (68)
MB _{Ruv} (%)	0.23 ± 0.01 (74)	0.23 ± 0.01 (132)	0.23 ± 0.01 (68)

Em relação à variação ao longo do tempo entre os diferentes tratamentos, houve influência significativa apenas do tempo em cinco dos parâmetros estimados: IMC, PP_t, AMB, MB_{Bmed} e MB_{Ruv}. Em relação ao PC1 e PC2, houve influência significativa do tratamento sobre o primeiro e da interação sobre o segundo, indicando diferenças na variação entre os tratamentos ao longo do

tempo. Além disso, ao desmembrar a análise dos dados transformados da porcentagem de plumagem preta, levando-se em conta apenas os indivíduos com muda incompleta, foi observada uma influência significativa do tempo, do tratamento (com grupo de machos tendendo a valores maiores que os demais) e da interação, mas nenhuma influência significativa do tratamento ou da interação em relação à realização completa da muda (Tabela 1).

Tabela 3. Resultado das análises do índice de massa corpórea e das características de plumagem entre os tratamentos ao longo do tempo, apresentando os graus de liberdade (GL), resultado da estatística (χ^2) e valor de significância (P). Variáveis utilizadas: índice de massa corporal (IMC), porcentagem de plumagem preta transformada (PP_t), área relativa da mancha branca (AMB), 1º componente principal (PC1), 2º componente principal (PC2), brilho médio da mancha branca (MB_{Bmed}), croma ultravioleta da mancha branca (MB_{Ruv}), porcentagem de plumagem preta apenas dos indivíduos que não haviam completado a muda (PP_{inc}) e indivíduos que completaram ou não a muda (PP_{bin}).

Variável	Fator fixo	GL	χ^2	P
IMC (g/cm)	Tratamento	2	1.94	0.38
	Tempo	8	25.64	$< 10^{-3}$ *
	Interação	16	24.50	0.08
PP_t (%)	Tratamento	2	1.98	0.37
	Tempo	8	162.02	$< 2.2e-16$ *
	Interação	16	24.98	0.07
AMB	Tratamento	2	0.35	0.84
	Tempo	8	50.24	$3.67e-08$ *
	Interação	16	22.22	0.14
	Tratamento	2	7.75	0.02 *

PC1	Tempo	8	14.90	0.06
	Interação	16	13.74	0.62
PC2	Tratamento	2	3.84	0.15
	Tempo	8	7.32	0.50
	Interação	16	28.76	0.03*
MB _{Bmed} (%)	Tratamento	2	2.86	0.24
	Tempo	8	58.19	1.05e-09 *
	Interação	16	12.47	0.71
MB _{Ruv} (%)	Tratamento	2	0.80	0.67
	Tempo	8	39.73	3.60e-06 *
	Interação	16	15.60	0.48
PP _{inc}	Tratamento	2	10.05	0.01 *
	Tempo	8	88.29	1.03e-15 *
	Interação	16	29.44	0.02 *
(PP _{bin})	Tratamento	2	0.69	0.71
	Tempo	8	73.75	8.78e-13 *
	Interação	16	17.88	0.33

* Valores significativos de P

Podemos inferir que, embora todas as variáveis apresentadas tenham sofrido efeito do tempo, tal efeito não ocorreu de maneira uniforme entre as variáveis (Fig. 3, a-e). Todas elas, em maior ou menor grau, parecem ter sofrido a influência da transição da estação reprodutiva para a não reprodutiva (aproximadamente em abril). No entanto, enquanto a porcentagem de plumagem preta apresentou seus valores máximos entre março e maio, assemelhando-se a uma parábola, o índice de massa corporal sofreu uma queda aproximadamente a partir do mês de março e as características espectrais da mancha branca um pico para baixo no mês de abril, sendo este,

provavelmente, o principal responsável pela influência significativa do tempo apontada nas análises estatísticas.

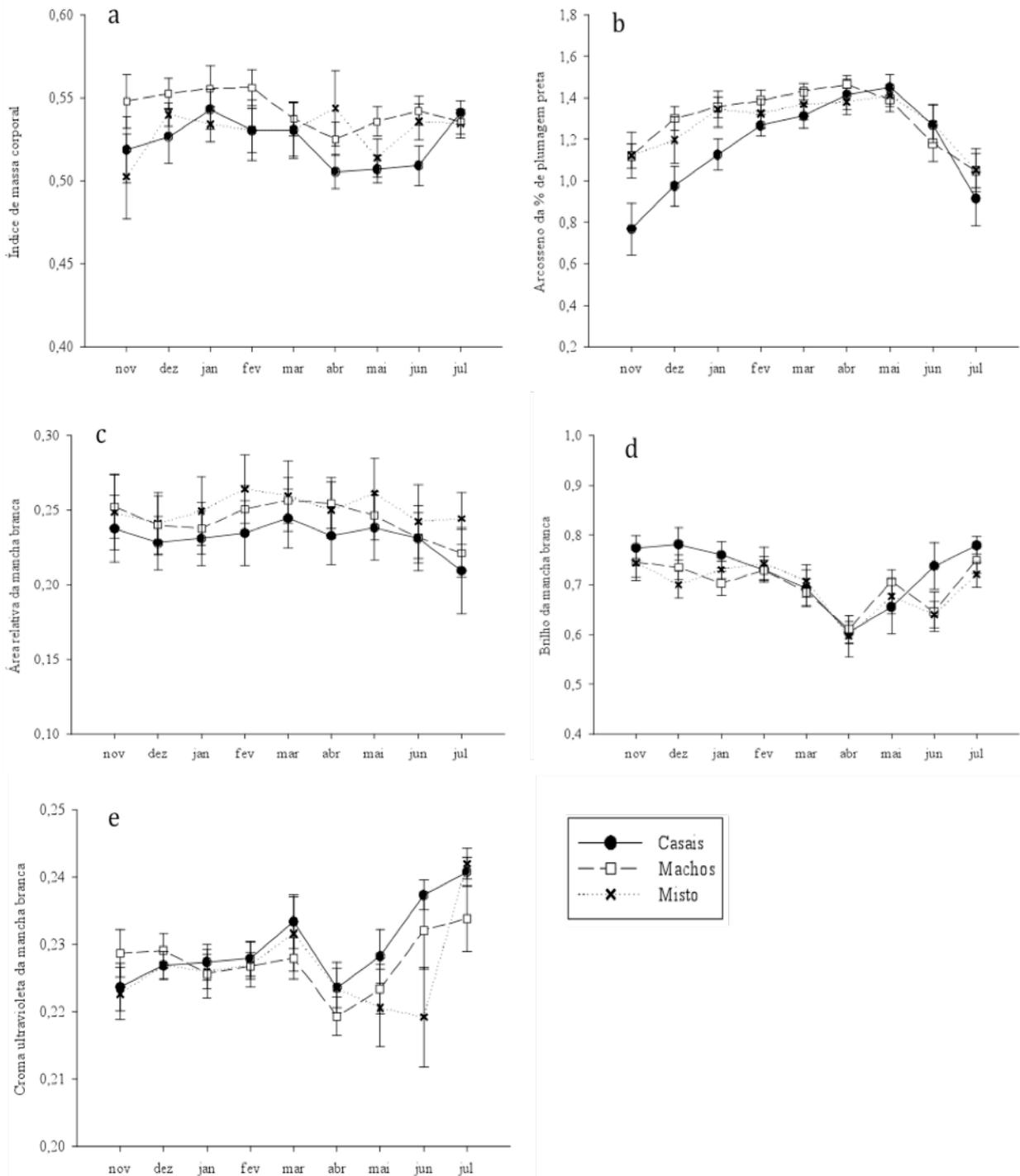


Figura 3. Variação do índice de massa corporal (a), porcentagem de plumagem preta (b), área relativa da mancha branca (c), brilho (d) e croma ultravioleta (e) da macha branca ao longo do tempo entre os tratamentos.

Observando a Figura 4 da variação ao longo do tempo da porcentagem de plumagem preta dos indivíduos com muda incompleta, podemos notar que os indivíduos que estavam em grupos com apenas machos tenderam a manter uma maior porcentagem de plumagem nupcial e por mais tempo, enquanto os demais tenderam a demorar mais a aumentar tal porcentagem.

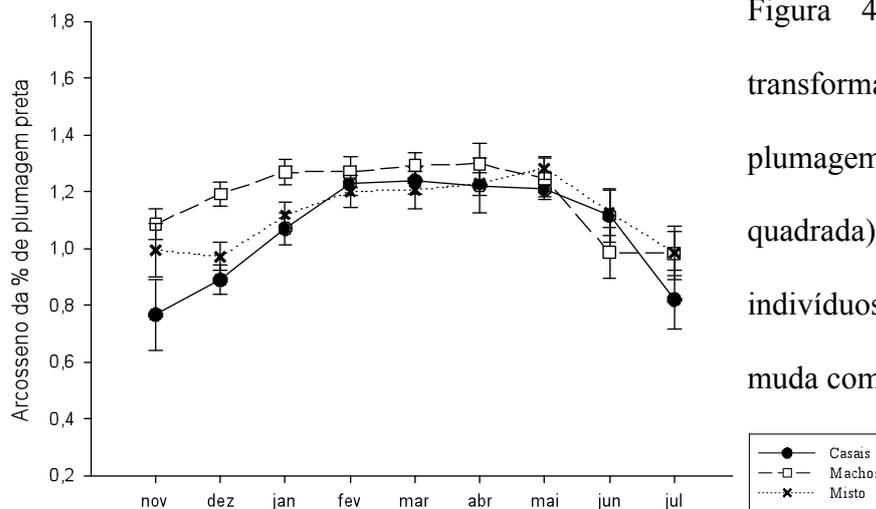


Figura 4. Variação dos dados transformados da porcentagem de plumagem preta (arcosseno da raiz quadrada) considerando apenas os indivíduos que não apresentavam muda completa.

Em relação aos valores dos componentes principais, altos valores de PC1 indicam indivíduos com uma plumagem mais brilhante e saturada. Podemos inferir que a variação entre os tratamentos nos valores de PC1 está especialmente relacionado ao tratamento dos grupos mistos e machos, os quais apresentaram respectivamente os menores e os maiores valores para esta variável, além da maior e menor variação, também respectivamente (Fig. 5a). Altos valores de PC2 indicam indivíduos com reflectância máxima em comprimentos maiores e com menor contribuição relativa da faixa do ultravioleta, ou seja, mais amarronzados. Em relação ao PC2 a tendência ao longo do tempo não se manteve constante indicando grande variação entre os grupos de um mês para o outro (Figura 5b). No entanto, os casais tenderam a apresentar valores mais elevados desta variável além de maior variação.

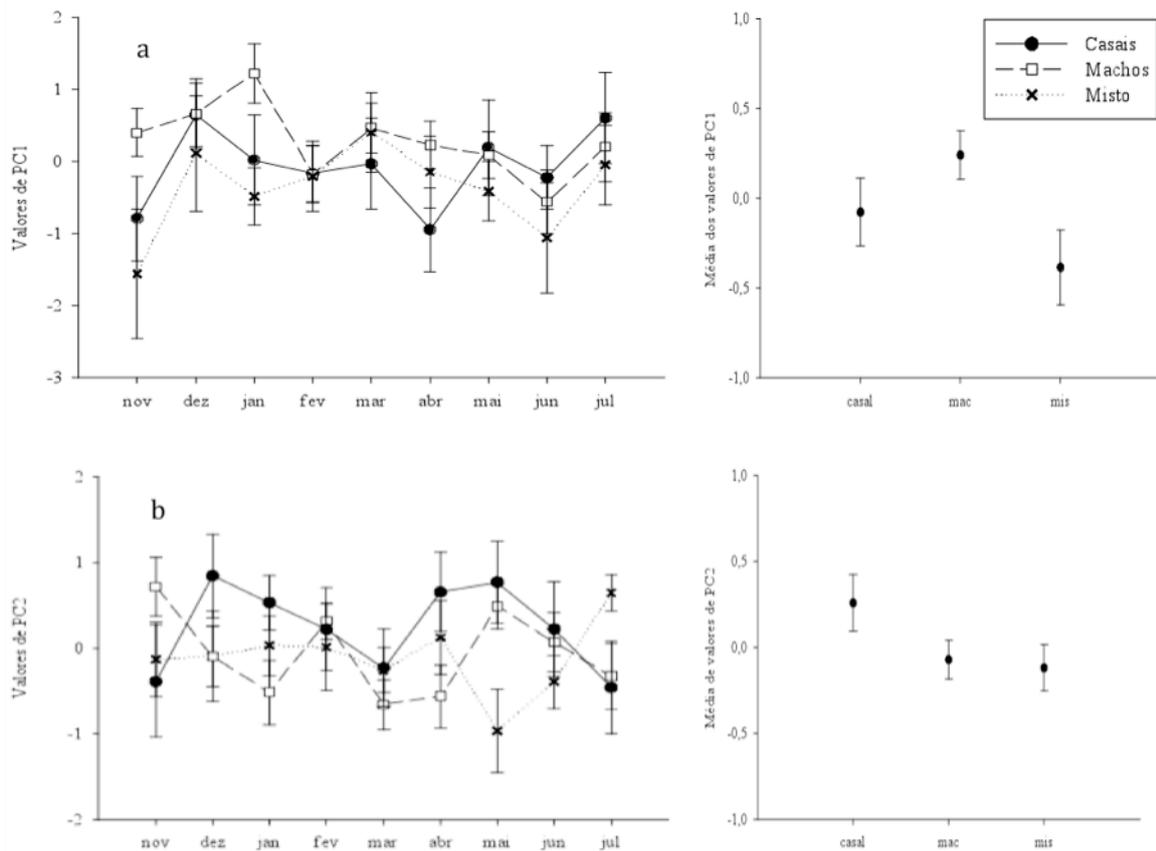


Figura 5. Esquerda: variação dos valores referentes ao primeiro (a) e ao segundo (b) componente principal (PC1 e PC2, respectivamente) entre os tratamentos ao longo do tempo. Direita: Média e erro padrão dos valores de PC1 (acima) e PC2 (abaixo) para cada um dos tratamentos.

Apesar desta variação encontrada nos valores de PC2, saturação e brilho são propriedades mais propensas a serem afetadas pelo meio externo que o matiz e, portanto, variações intrínsecas ao espectrofotômetro ou relativa às medidas realizadas em dias diferentes, devem ser levadas em consideração (Prum 2006).

DISCUSSÃO

As análises iniciais das sete variáveis indicaram que as características de índice de massa corporal, porcentagem de plumagem preta, área relativa, brilho e croma ultravioleta da mancha

branca variaram ao longo do tempo. Para algumas destas características, tais como porcentagem de plumagem preta, este achado não é surpreendente, tendo em vista que o período do experimento englobou desde o início da estação reprodutiva, até a época de transição para a estação não reprodutiva e, assim, nada mais natural que ocorresse uma variação na porcentagem de plumagem nupcial ao longo desta transição.

Apesar de menos evidente, o fato do experimento ter englobado tal período de transição também deve ter afetado as demais variáveis que foram significativamente influenciadas pelo tempo. O índice de massa corporal, por exemplo, apresenta uma pequena queda a partir de abril, que é aproximadamente quando termina a estação reprodutiva e os indivíduos migrariam. O tamanho relativo da mancha branca, bem como suas características de coloração, sofreram provavelmente a influência de dois fatores concomitantes ao longo do tempo: a queda de penas nesta região devido às coletas mensais e a realização das mudas, onde as manchas brancas eram “renovadas”. Ao realizar as medidas de espectrofotometria foi possível notar que as características espectrais da mancha branca estavam muito relacionadas com o tipo de pena analisada. Apesar de serem todas penas brancas, algumas tinham características morfológicas visivelmente diferentes, tais como tamanho, textura e algumas vezes até mesmo cor. Apesar da preferência pela coleta de penas com as mesmas características, logo antes de iniciar a muda das penas das manchas brancas (abril), muitos indivíduos estavam com poucas penas nesta região, e, possivelmente este foi o principal responsável pela queda brusca dos valores de brilho e croma ultravioleta neste mês.

Além disso, existem pelo menos três maneiras distintas pelas quais a expressão de cores das penas podem sofrer alterações mesmo após a realização das mudas, por exemplo, através de camuflagem de manchas coloridas, ajuste à degradação e aplicação de cosméticos (substâncias que conferem cor ou textura diferente às penas já formadas e que são ativamente aplicadas pelas aves ou secretadas sobre as penas; Delhey *et al.* 2007). Sendo as penas não pigmentadas mais frágeis e suscetíveis à abrasão e ação de microorganismos (McGlothlin *et al.*, 2007) é possível que este fator também tenha influenciado na mudança do brilho e do croma ultravioleta ao longo do tempo.

Até hoje, pouco se elucidou a respeito da função sinalizadora da mancha branca nas asas do tiziu. O display sexual desta espécie e a conspicuidade contrastante desta mancha com o fundo preto da asa sugere uma importância evolutiva de tal característica no contexto sexual (Doucet *et al.*, 2007, Osorio e Vorobyev, 2008), no entanto, estudos anteriores não indicaram relação do tamanho relativo da mancha branca com parasitismo (Costa e Macedo, 2005; Aguilar *et al.*, 2008) e nem do estágio da muda com a lividez da pena (Maia, 2008), apesar de tais variáveis aparentemente influenciarem na plumagem preta (Costa e Macedo 2005; Maia, 2008). Até o presente momento, a única relação encontrada com esta mancha foi, indiretamente, com a idade (Maia, 2008). Estes achados sugerem que, embora exista potencial influência do meio sobre as características da mancha branca do tiziu, estas parecem estar relacionadas principalmente a fatores genéticos da espécie.

Também é importante ressaltar que houve diferença em determinadas características da plumagem nupcial entre os tratamentos (tal como PC1 e PP_{inc}) sem, no entanto, haver diferença no índice de massa corporal (IMC). McGraw (2002) sugere a influência do estresse nutricional sobre algumas propriedades espectrais da coloração estrutural de *Molothrus ater*. Além disso, estudos anteriores apontaram relação entre qualidade corporal e coloração em tizius (Doucet, 2002; Maia, 2008). Com estes resultados é possível imaginar por um lado, que a coloração estrutural possa ser influenciada pela alimentação até um certo ponto, mas também deve ocorrer uma “escolha” fisiológica individual referente ao direcionamento de recursos energéticos. Em cativeiro todos os indivíduos tinham acesso irrestrito a alimento, o qual, neste caso, não seria mais um fator limitante. Assim, é possível que a partir do momento em que o acesso a alimento deixe de ser um fator limitante, as características da plumagem estrutural passem a se relacionar mais com outros mecanismos proximais de regulação da cor, que podem atuar tanto na formação das penas (e.g. níveis hormonais, Peters *et al.*, 2000; níveis de proteínas, Peters *et al.* 2007) quanto na sua manutenção (e.g. parasitas, Costa & Macedo 2005; bactérias, Shawkey *et al.* 2007; cosméticos Delhey, 2007).

Por outro lado, é provável que, ainda assim, esta “independência” entre características da coloração e qualidade corporal não seja total. Podemos observar que, embora não tenha havido influência do tratamento ou da interação para IMC, existiu uma tendência ao grupo só de machos a apresentar IMC mais elevado nos meses de novembro a janeiro, se igualando aos demais em março. Padrões semelhantes a este ocorrem também para a PP_{inc} e PC1, onde os valores são mais elevados para o grupo de machos e tende a igualar-se aos demais em fevereiro. Este aumento temporário de IMC é típico para a época de muda de pequenos passeriformes durante o período de renovação das penas (Peters *et al*, 2000).

Os fatores que influenciaram as características da plumagem nupcial foram mais diversos do que aqueles relativos à mancha branca. O fato de tais características terem variado em função do grupo social no qual os indivíduos estavam inseridos sugere que esta plumagem é mais suscetível a efeitos do meio externo, corroborando estudos anteriores sobre esta e outras espécie, que indicaram que tal plumagem parece ser influenciada por parasitismo (Costa e Macedo, 2005; Hill *et al.*, 2005, Shawkey, 2007) e estar relacionada com a qualidade dos machos (Bennet *et al*, 1997; Fitzpatrick, 1998; Doucet, 2002, Doucet & Montgomerie, 2003; Maia, 2008). Sabe-se, também, que existe grande variação entre indivíduos na plumagem de machos, inclusive nas nanoestruturas responsáveis pela formação da cor (Shawkey *et al.*, 2003; Doucet *et al.*, 2006, Maia *et al*, no prelo).

Segundo achados por estudos anteriores diferenças nas nanoestruturas de fato, tal como na largura da camada de queratina e densidade dos grânulos de melanina, levam especialmente a variações relacionadas com aspectos da cor, como o comprimento de onda de máxima reflectância (matiz) e o croma ultravioleta, enquanto aspectos relacionados ao brilho estaria sendo influenciado especialmente por fatores de mais larga escala, tais como o número de bárbulas ou a qualidade destas (Shawkey *et al.*, 2003; Doucet *et al.* 2006).

O interessante resultado do presente estudo foi a elucidação do fator ambiental responsável por esta influência, ou seja, o impacto do ambiente social, e a interpretação de como

ocorreu essa influência. Os valores de PC1 na análise sugerem que o tratamento de machos apresentaram, em geral, maiores e menos flutuantes valores de brilho, contraste e intensidade da cor. Além disso, as análises posteriores desmembradas da porcentagem de plumagem preta sugerem que não há diferença entre os tratamentos em atingir ou não a muda completa, mas até que isto ocorra, existe uma influência na porcentagem de plumagem preta do meio social no qual o indivíduo está inserido e esta influência varia ao longo do tempo. Neste caso, o grupo só de machos apresentou uma tendência a valores mais altos de porcentagem de plumagem preta, especialmente na estação reprodutiva (novembro a abril; Figura 4), sugerindo novamente um destaque deste ambiente social.

Em relação aos dados de PC2 (relacionados especialmente ao matiz e croma ultravioleta), apesar da ausência de influência do tratamento e do tempo, houve efeito da interação. Pelos resultados obtidos, podemos concluir que, apesar da aparente falta de padrão na variação ao longo do tempo, os machos dos casais tenderam a apresentar valores mais elevados e mais flutuantes de PC2, enquanto o grupo misto e o grupo de machos apresentaram médias e erros padrão bem próximos. No entanto, se observamos os valores apenas durante a estação reprodutiva (aproximadamente até abril), podemos notar que existe uma tendência do grupo de machos a valores mais baixos desta variável (indivíduos menos amarronzados e que refletem mais no ultravioleta). É razoável considerar, inclusive, que a aparente falta de padrão na variação ao longo do tempo possa ter camuflado alguma possível diferença entre os tratamentos.

Ao contrário do que era inicialmente esperado, estes achados, em conjunto, sugerem que, apesar da provável importância da plumagem nupcial do tiziu no contexto da seleção sexual, talvez esta característica tenha um papel de maior destaque no contexto intra-sexual. Apesar da referida relação desta plumagem com a qualidade individual (Doucet, 2002; Maia, 2008), nenhum estudo desta espécie até agora indicou a preferência das fêmeas por alguma característica de plumagem específica dos indivíduos (Carvalho *et al*, 2006; Dias, submetido) e nem mesmo do seu display sexual (Aguilar *et al*, 2008), onde sua plumagem é exibida. É necessário haver ainda mais

evidências empíricas para chegar a conclusões a este respeito, no entanto, o presente estudo indica que provavelmente nesta espécie a influência da disputa entre machos merece especial atenção. Neste cenário, poderíamos imaginar, portanto, que a seleção de parceiros por parte das fêmeas seria baseada especialmente em estimativas indiretas tais como a habilidade dos machos em conseguir um bom território ou potencialidade em prover cuidado parental e não por meio de disputas diretas por fêmeas.

A grande maioria dos estudos relacionando coloração e sinalização intra-sexual leva em conta coloração baseada em melanina, onde a relação entre dominância e aspectos da estrutura colorida (especialmente tamanho de manchas) já está bem estabelecida, enquanto para demais tipos de coloração, pouco se conhece (Senar, 2006). Em relação à coloração estrutural, as relações entre dominância e habilidade de disputas já foram sugeridas tanto para manchas brancas (Pärt e Qvarnström, 1997), quanto para plumagens cromáticas (Siefferman & Hill, 2005). No entanto, estes achado não são universais (ver, por exemplo, Madsen *et al.* 2007, Santos *et al.*, no prelo).

Segundo Kimball (2006) existem dois hormônios principais que regulam o dicromatismo de cores na maioria dos passeriformes: a testosterona e o hormônio luteinizante (LH). A testosterona é um esteróide produzido principalmente nos testículos, portanto, um andrógeno, enquanto o LH é um tipo de gonadotrofina produzido na pituitária. Peters e colaboradores (2000) sugerem a testosterona como sendo o elemento de ligação entre condição corporal de um macho e o nível de sinalização sexual. Em seu estudo, estes autores encontraram relação positiva entre testosterona e a realização da muda em *Malurus cyaneus*, bem como com a manutenção e o brilho da plumagem nupcial.

Apesar destes resultados, Kimball (2006) sugere uma explicação alternativa no qual a testosterona estimularia a realização da muda, mas outros fatores poderiam estar determinando a coloração da plumagem. Sugere, ainda, alguns destes possíveis fatores tais como a ação do LH, conversão de andrógenos em estrógenos (ressaltando que o desenvolvimento de plumagem brilhante mediada por estrógenos nunca foi documentada), ou fatores não hormonais. Atualmente,

sabe-se que o LH estimula a produção de testosterona (Ketterson & Nolan Jr. 1992) e que, assim como os estrógenos, pode intensificar a ação da tirozinase, uma enzima crítica na síntese de melanina (componente essencial da coloração estrutural). No entanto, até hoje muito pouco é conhecido sobre a efetiva atuação destes hormônios ou fatores não hormonais na regulação da expressão de plumagens coloridas.

Em um outro estudo realizado paralelo a este com os mesmos indivíduos, foi medido a concentração de testosterona ao longo do tempo nos mesmos três ambientes sociais diferentes abordados aqui (Lacava, R., dados não publicados). Este estudo encontrou que havia significativa variação da interação tempo – tratamento nos níveis de testosterona, além de grande e positiva variação ao longo do tempo, mas não encontrou variação entre os tratamentos. Contrastando com os resultados aqui presentes, onde não foi encontrada influência do tempo sobre as características relacionadas às propriedades espectrais da plumagem nupcial (PC1 e PC2), mas foi encontrado efeito do tratamento, da interação e especialmente do tempo na aquisição da plumagem preta, estes resultados sugerem que a testosterona parece estar de alguma forma relacionada com a regulação da expressão da plumagem nupcial no tiziu, mas é possível que esta regulação esteja ocorrendo, ao menos em alguns aspectos, de maneira indireta, corroborando com o sugerido por Kimball (2006).

Desta forma, sendo a testosterona tradicionalmente relacionada a agressividade em machos, poderíamos imaginar que em um ambiente mais hostil, os indivíduos tenderiam a ser mais agressivos, liberar mais testosterona e, estando este hormônio relacionado, mesmo indiretamente, com a plumagem nupcial nesta espécie, os indivíduos desenvolveriam plumagem mais preta e brilhante. No entanto, em um estudo ainda não publicado com o próprio tiziu, Santos (2009) não encontrou nenhuma relação entre características morfológicas da plumagem e agressividade em um contexto de disputa de alimentos.

Estudos sobre a evolução de conflitos em animais têm frequentemente se focado em interações pareadas nas quais dois oponentes disputam um recurso e o custo ou benefício do

contexto vem como consequência direta do conflito. Além disso, a grande maioria dos estudos envolvendo a relação entre ornamentos coloridos em aves e aspectos intra-sexuais são restritos à questão de dominantes *versus* subordinados (Hill, 2006; Senar, 2006). No entanto, interações sociais e agressivas na natureza normalmente acontecem em um contexto de informação bem mais amplo obtido a partir de vários membros de um grupo (McGregor & Peake, 2000 em Alonso & Alvarez, 2004). Em uma revisão realizada por Hirschenhauser & Oliveira (2006), por exemplo, estes autores apontam relações muito forte entre testosterona e status social em peixes e mamíferos, mas praticamente inexistente nas aves sugerindo que nesta classe pode muitas vezes não haver hierarquia tão direta e bem definida.

De qualquer forma, o que o estudo aponta aqui é que, independentemente de haver uma hierarquia bem definida, aparentemente grupos só de machos demonstrou ser provavelmente um ambiente mais hostil, servindo como gatilho para o aumento da porcentagem de plumagem preta e do brilho, não de um suposto indivíduo dominante ou subordinado, mas do grupo como um todo. Assim, mesmo se não houver uma hierarquia bem definida, o aspecto intra-sexual parece ter um importante efeito na expressão da plumagem nesta e possivelmente em outras espécies, inclusive nas que não foram encontradas relações entre dominância e plumagem.

Por outro lado, tão conhecido quanto o papel da testosterona na agressividade e habilidade de disputa dos indivíduos é o seu papel desvantajoso tal como no consumo de energia e supressão do sistema imunológico (Wingfield, 2001). Considerando que os indivíduos foram mantidos em tais condições experimentais durante um ano inteiro, manter durante todo este tempo índices altos de testosterona seria extremamente custoso e possivelmente prejudicial para os indivíduos. Considerando que os indivíduos do grupo misto tiveram os menores valores de PC1 (portanto, indivíduos menos brilhantes), podemos nos perguntar: será este o ambiente menos hostil? Ou seria ele tão hostil a ponto dos indivíduos se desgastarem em disputas a ponto de não ter mais grande quantidade de energia disponível para investir em plumagem? Se esta segunda hipótese estiver correta, então a interpretação seria oposta e o grupo misto seria o ambiente mais hostil. Desta

forma, o meio social continuaria influenciando a plumagem dos indivíduos, o grupo só de machos continuaria apresentando em geral uma plumagem mais “bonita”, no entanto, a explicação para isso seria bem diferente: teriam energia sobrando pela pouca competitividade devido, provavelmente, a ausência de fêmeas, e não um ambiente de grandes disputas estimulando-os a investir mais em plumagem.

Em um estudo com dados ainda não publicados com os mesmos indivíduos, Lacava, R. encontrou uma relação inversa entre agressividade em disputa por alimento e porcentagem de plumagem preta, indicando que esta possibilidade aqui levantada poderia ser plausível. No entanto, não me parece provável considerando os demais padrões encontrados neste estudo, bem como na avaliação hormonal realizada ao longo do tempo com os mesmos indivíduos citada anteriormente, onde o tratamento de machos tendeu a se diferenciar mais que os outros (Lacava, R., dados não publicados). Vale ainda destacar que embora os indivíduos fossem os mesmos, o contexto experimental em os dois estudos (este e o que relacionou agressividade e características de plumagem) se desenvolveram foi completamente diferente. Novamente, aqui não estamos falando necessariamente de *indivíduos* melhores ou piores, mais ou menos dominantes, e sim de *ambiente* mais ou menos hostil.

O que poderia ajudar a elucidar esta questão seria a comparação paralela entre as características de plumagem e os níveis de testosterona medidos dos mesmos indivíduos no mesmo período de tempo. Além de possivelmente auxiliar na elucidação se esta característica é ou não mediada por este hormônio, ver como as duas variavam em conjunto dentro de cada grupo ao longo do tempo poderia ser a peça que estava faltando para ligar ambiente social e expressão de características morfológicas da plumagem. De qualquer forma, independentemente da maneira exata como se dá a regulação da expressão e manutenção da coloração nesta espécie, o ambiente social parece ter influenciado nas características da plumagem nupcial do tiziu e levado o grupo de machos a uma plumagem mais preto-azulada, brilhante e, supostamente, de melhor qualidade.

Por último, mas não menos importante, cabe ressaltar aqui também a importância do fator tempo. Estudos temporalmente pontuais podem levar a conclusões equivocadas sobre o significado e variação de atributos ornamentais. Por exemplo, se observássemos os valores de PC2 em apenas um dos meses chegaríamos a conclusões bem diferentes de acordo com o mês observado. Considerando que na natureza as características muitas vezes de fato variam ao longo do tempo, um acompanhamento da variação é muito mais verdadeiro do que uma análise da característica num determinado momento.

Apesar da aparente simplicidade da plumagem nupcial do tiziu, é possível que esta característica esteja relacionada a um contexto social mais complexo do que se esperaria. Análises posteriores ainda precisam ser realizadas para esclarecer algumas questões em aberto a respeito da influência do meio social na coloração estrutural, tal como sua relação com níveis hormonais. De qualquer forma, pode-se considerar que os resultados aqui apresentados corroboram a hipótese de que características da coloração estrutural do tiziu podem se desenvolver de forma diferente de acordo com o ambiente social no qual se insere um indivíduo, mas provavelmente não da forma inicialmente esperada, e ressalta a importância do papel das interações intra-sexuais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, T. M.; Maia, R.; Santos, E. S. A. & Macedo, R. H. (2008). Parasite level in blue-black grassquits correlate with male displays but not female mate choice. *Behavioral Ecology*. 19: 292 – 301.
- Alderton, C. C. (1963). The breeding behavior of the blue-black grassquit. *Condor*. 65: 154-162.
- Almeida, J.B. & Macedo, R. H. (2001). Lek-like mating system of the monogamous blue-black grassquit. *Auk*. 118: 404 – 411.
- Alonso-Alvarez, C.; Doutrelant, C. & Sorci, G. (2004). Ultraviolet reflectance affects male-male interactions in the blue tit (*Parus caeruleus ultramarines*). *Behavioral Ecology*. 15: 805 – 809.

- Andersson, S. & Prager, M. (2006) Quantifying Colors. Em: *Bird Coloration, Vol. I: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 295 – 355. Cambridge: Harvard University Press.
- Bennet, A. T. D. & Cuthill, I. C. (1994). Ultraviolet vision in birds: What is its function? *Vision Research*. 34:1471 – 1478.
- Bennet, A. T. D.; Cuthill, I. C.; Partridge, J. C. & Lunau, K. (1997). Ultraviolet plumage colores predict mate preferences in starlings. *Proc. Natl. Acad. Sci. Usa*. 94: 8618 – 8621.
- Carvalho, C.B.; Macedo, R. H. & Graves, J. (2006). Breeding strategies of a socially monogamous neotropical passerine: extra-pair fertilizations, behavior and morphology. *The Condor*. 108: 579 - 590
- Costa, F. J. V. & Macedo, R. H. (2005). Coccidian oocyst parasitism in the blue-black grassquit: influence on secondary sex ornaments and body condition. *Animal Behaviour*. 70: 1401 – 1409.
- Cuthill, I. C.; Partridge, J. C.; Bennett, A. T. D.; Church, S. C.; Hart, N. S. & Hunt, S. (2000). Ultraviolet vision in birds. *Adv. Stud. Behav*. 29: 159 – 214.
- Cuthill, I. C. (2006). Color perception. Em: *Bird Coloration, Vol. I: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 3 – 40. Cambridge: Harvard University Press.
- Darwin, C. (1871). *The descent of man, and selection in relation to sex*. London: John Murray.
- Delhey, K.; Peters, A. & Kempenaers, B. (2007). Cosmetic coloration in birds: occurrence, function and evolution. *American Naturalist*. S169: 146 – 158.
- Dias, R. I. (2006). The role of ultraviolet wavelength in sexual selection. *Revista Brasileira de Ornitologia*. 14: 191 – 195.
- Dias, R. I. S. C. (submetido). Indiscriminate females and unresponsive males: extra-pair mating mechanisms in the blue-black grassquit. *Behavioral Ecology*.
- Doucet, S. M. (2002). Structural plumage coloration, male body size, and condition in the blue-black grassquit. *Condor*. 104: 30 – 38.

- Doucet, S. M. & Montgomerie, R. (2003). Multiple sexual ornaments in satin bowerbirds: ultraviolet plumage and bowers signal different aspects of male quality. *Behavioral Ecology*. 14: 503 – 509.
- Doucet, S. M.; Shawkey, M. D.; Hill, G. E. & Montgomerie, R. (2006). Iridescent plumage in satin bowerbirds: structure, mechanisms and nanostructural predictors of individual variation in colour. *Journal of Experimental Biology*. 209: 380 – 390.
- Doucet, S. M.; Mennill, D. J. & Hill, G. D. (2007). The evolution of signal design in manakin plumage ornament. *American Naturalist*. S169: 62 – 80.
- Fitzpatrick, S. (1998). Colour schemes for birds: structural coloration and signal of quality in feathers. *Annales Fennici*. 35: 67 – 77.
- Galván, I. (2008). The importance of white on black: unmelanized plumage proportion predicts display complexity in birds. *Behavioral Ecology and Sociobiology*.
- Hill, G. E.; Doucet, S. M. & Buchholz, R. (2005). The effect of coccidial infection on iridescent plumage coloration in wild turkeys. *Animal Behaviour*. 69: 387 – 394.
- Hill, G. E. (2006). Environmental Regulation of Ornamental Coloration. Em: *Bird Coloration, Vol. I: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 295 – 355. Cambridge: Harvard University Press.
- Hill, G. E. & McGraw, K. J. (2006). *Bird Coloration*. Harvard University Press. Londres – Inglaterra.
- Hirschenhauser, K. & Oliveira, R. F. (2006). Social modulation of androgens in male vertebrates: Meta-analyses of the challenge hypothesis. *Animal Behaviour*. 71: 265 – 277.
- Jacot, A. & Kempenaers, B. (2007). Effects of nestling condition on UV plumage traits in blue tits: an experimental approach. *Behavioral Ecology*. 18: 34 – 40.
- Johnsen, A.; Delhey, K.; Andersson, S. & Kempenaers, B. (2003). Plumage colour in nestling blue tits: sexual dichromatism, condition dependence and genetic effects. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*. 270: 1263 – 1270.

- Keyser, A. J. & Hill, G. E. (1999). Condition-dependent variation in the blue-ultraviolet coloration of a structurally based plumage ornament. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*. 266: 771 – 777.
- Ketterson, E. D. & Nolan Jr., V. (1992). Hormones and life histories: an integrative approach. *The American Naturalist*. S140: 33 – 62.
- Kimball, R. T. (2006). Hormonal control of coloration. Em: *Bird Coloration Vol. I: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 431 – 468. Cambridge: Harvard University Press.
- Madsen, V.; Dabelsteen, T.; Osório, D. & Osorno, J. L. (2007). Morphology and ornamentation in male magnificent frigatebirds: variation with age class and mating status. *American Naturalist*. S169: 93 – 111.
- Maia, R. (2008). Coloração estrutural iridescente do tiziu (*Volatinia jacarina*, Aves: Emberizidae): mecanismos de produção, variação e função. *Disseertação de mestrado apresentada no Programa de Pós-Graduação em Ecologia*. Universidade de Brasília, Brasília – DF.
- Maia, R.; Caetano, J. V. O.; Bão, S. N. & Macedo, R. H. (no prelo). Iridescent structural colour production in male blue-black grassquit feather barbules: the role of keratin and melanin. *Journal of Royal Society Interface*.
- McGlothlin, J. W.; Duffy, D. L.; Henry-Freeman, J. L. & Ketterson, E. D. (2007). Diet quality affects an attractive white pattern in dark-eyed juncos (*Junco hyemalis*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 61: 1391 – 1399.
- McGraw, K. J.; Mackillop, E. A.; Dale, J. & Hauber, M. E. (2002). Different colors reveal different information: how nutritional stress affects the expression of melanin- and structurally based ornamental plumage. *Journal of Experimental Biology*. 205: 3747 – 3755.
- McGraw, K. J.; Dale, J.; Mackillop, E. A. (2003). Social environment during molt and the expression of melanin-based plumage pigmentation in male house sparrows (*Passer domesticus*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 53: 116 – 122.

- McGraw, K. J. (2006). Mechanics of carotenoid-based coloration. Em: *Bird Coloration, Vol. I: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 295 – 355. Cambridge: Harvard University Press.
- Montgomerie, R. (2006). Analyzing Colors. Em: *Bird Coloration, Vol. I: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 90 – 147. Cambridge: Harvard University Press.
- Mullen, P. & Pohland, G. (2008). Studies on UV reflection in feathers of some 1000 birds species: are UV-peaks in feathers correlated with VS/UVS cones? *Íbis*. 150: 59 – 68.
- Murray Jr., B. G. (1982). Territorial behavior of the blue-black grassquit. *Condor*. 84: 119.
- Osorio, D. & Ham, A. D. (2002). Spectral reflectance and directional properties of structural coloration in bird plumage. *Journal of Experimental Biology*. 205: 2017 – 2027.
- Osorio, D. & Vorobyev, A. (2008). A review of the evolution of animal colour vision and visual communication signals. *Vision Research*. 48: 2042 – 2051.
- Pärt, T. & Qvarnström, A. (1997). Badge size in collared flycatchers predicts outcome of male competition over territories. *Animal Behaviour*. 54: 893 – 899.
- Peters, A.; Astheimer, L. B.; Boland, C. R. J. & Cockburn, A. (2000). Testosterone is involved in acquisition and maintenance of sexually selected male plumage in superb fairy-wrens, *Malurus cyaneus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 47: 438 – 445.
- Peters, A.; Delhey, K.; Johnsen, A. & Kempenaers, B. (2007). The condition-dependent development of carotenoid-based and structural plumage in nestling blue tits: male and female differ. *The American Naturalist*. S169: 122 – 136.
- Prum, R. O. & Torres, R. H. (2003). A fourier tool for the analysis of coherent light scattering by bio-optical nanostructures. *Integrative and Comparative Biology*. 43: 591 – 602.
- Prum, R. O. (2006). Anatomy, physics, and evolution of avian structural colors. In: *Bird Coloration, Vol. I: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 295 – 355. Cambridge: Harvard University Press.

- Quinn, G. P. & Keough, M. J. 2002. *Experimental design and data analysis for biologists*. 1^a ed. Cambridge: Cambridge University Press.
- R Development Core Team. 2007 *R: A Language for Data Analysis and Graphics*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. (disponível em <http://cran.r-project.org/>).
- Santos, S. I.C. O.; De Neve, L.; Lumeij, J. T. & Förschler, M. I. (2007). Strong effects of various incidence and observation angles on spectrometric assessment of plumage colouration in birds. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 61: 1499 – 1506.
- Santos, E. S. A.; Maia, R. & Macedo, R. H. (no prelo). Condition dependent resource-value affects male-male competition in the blue-black grassquit. *Behavioral Ecology*.
- Schielezeth, H. & Forstmeir, W. (no prelo). Conclusions beyond support: overconfident estimates in mixed models. *Behavioral Ecology*.
- Senar, J. C. (2006). Color displays as intrasexual signals of aggression and dominance. In: *Bird Coloration, Vol. II: Function and Evolution* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 295 – 355. Cambridge: Harvard University Press.
- Shawkey, M. D.; Estes, A. M.; Siefferman, L. & Hill, G. E. (2003). Nanostructure predicts intraspecific variation in ultraviolet-blue plumage colour. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*. 270: 1471 – 2954.
- Shawkey, M. D.; Pillai, S. R.; Hill, G. E.; Siefferman, L. M. & Roberts, S. R. (2007). Bactéria as an agent for change in structural color: correlational and experimental evidence. *The American Naturalist*. S169: 112 - 121
- Siefferman, L. Hill, G. (2005). UV-blue structural coloration and competition for nestboxes in male eastern bluebirds. *Animal Behaviour*. 69: 67 – 72.
- Siefferman, L. & Hill, G.(2007). The effect of rearing environment on blue structural coloration of eastern bluebirds (*Sialia sialis*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 61: 1839 – 1846.

- Siitari, H.; Alatalo, R. V.; Halme, P.; Buchanan, K. L. & Kilpimaa, J. (2007). Color signal in the black grouse (*Tetrao tetrix*): signal properties and their condition dependency. *The American Naturalist*. S169: 81 – 92.
- Sick, H. (1997). *Ornitologia Brasileira*. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira.
- Staffan, A. & Prager, M. (2006). Quantifying colors. In: *Bird Coloration, Vol. I: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 90 – 147. Cambridge: Harvard University Press.
- Török, J.; Hegyi, G.; Garamszegi & L. Z. (2003). Depigmented wing patch size is a condition-dependent indicator of viability in male collared flycatchers. *Behavioral Ecology*. 14: 382 – 388.
- Werber, T. (1985). Songs, displays and other behavior at a courtship gathering of blue-black grassquit. *The Condor*. 87: 543 – 546.
- Wingfield, J. C., Lynn, S. E. & Soma, K. K. (2001). Avoiding the costs of testosterone: Ecological bases of hormone-behavior interactions. *Brain, Behavior and Evolution* 57:239 – 251.
- Zahavi, A. (1975). Mate selection – a selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology*. 53: 205 – 214.

Capítulo 2

Taxas de mortalidade e reprodução em cativeiro não são refletidas em características da plumagem estrutural do tiziu

INTRODUÇÃO

A comunicação visual em aves no contexto da seleção sexual é um dos aspectos que mais tem recebido atenção de pesquisadores, especialmente quando relacionado a cores (Darwin, 1871; Dale, 2006; Hill, 2006; Senar, 2006; Osório e Vorobyev, 2008). A diversidade de ornamentos exuberantes existentes nesta classe a tornam particularmente interessante para estudos sobre como determinadas características custosas podem ser mantidas em uma espécie ou população ao longo do tempo (Darwin, 1871; Zahavi, 1975).

De acordo com a hipótese da desvantagem, determinadas características extremas e aparentemente desvantajosas podem se manter nas populações através de mecanismos relacionados à seleção sexual, desde que tais características sejam sinalizadores honestos de qualidade individual (Zahavi, 1975). Sendo tais características extremas normalmente custosas, apenas indivíduos de melhor qualidade seriam capazes de mantê-las, ou ao menos seriam capazes de mantê-las melhor que os outros. Esta sinalização de qualidade deveria ser percebida por outros indivíduos da mesma espécie, e utilizada como critério de escolha por parceiros sexuais.

Na natureza, até onde se sabe, todas as cores são produzidas através da deposição de pigmentos (pigmentárias), através de interações físicas da onda de luz com superfícies de diferentes índices de refração (estrutural), ou um combinando dos dois (Fox, 1976; Keyser & Hill, 1999, Hill & McGraw, 2006). Durante muito tempo pesquisadores concentraram-se especialmente em aspectos relacionados à coloração por carotenóides, no entanto, a descoberta de que as aves enxergam bem na faixa do ultravioleta, bem como o desenvolvimento de técnicas que permitissem

medir objetivamente a cor dos indivíduos, fez com que crescesse nos últimos anos o interesse pela coloração estrutural ultravioleta (Bennett *et al.*, 1997; Keyser & Hill, 1999; Cuthill, 2006).

Atualmente, sabe-se que este tipo de coloração apresenta plasticidade fenotípica e variação interindividual muito maior do que se supunha e vários estudos têm relacionado aspectos da coloração estrutural com o meio ambiente (ver Hill, 2006a) e com a qualidade individual (Doucet, 2002; Doucet & Montgomerie, 2003; Hill *et al.*, 2005; Hill, 2006b; Maia *et al.*, 2008). A idéia é que, embora os indivíduos não dependam diretamente do meio externo para adquirir os elementos necessários para a expressão da cor, tal como ocorre com carotenóides, o ambiente possa ter influência tanto durante a formação quanto na manutenção de tais cores. Isso ocorreria, por exemplo através dos níveis de hormônios e proteínas circulantes (Peters *et al.*, 2000; Peters *et al.*, 2007) ou da limpeza das penas (Shawkey 2007; Delhey *et al.*, 2007), que poderiam interferir tanto na organização das estruturas espalhadoras de luz durante o desenvolvimento das penas, quanto na degradação das camadas formadas por estas estruturas (Shawkey *et al.*, 2003; Hill, 2006a; Shawkey *et al.*, 2007).

Esta provável dependência do meio junto com o fato deste tipo de coloração aparecer muitas vezes como indicativo de qualidade individual, sugere que a coloração estrutural pode frequentemente representar um sinalizador honesto, com o custo da produção da cor possivelmente relacionado a organização das partículas espalhadoras de luz (Zahavi, 1975; Doucet , 2002; Prum, 2006), além da quantidade e condição das bárbulas, onde as cores iridescentes (aquelas que mudam de aparência de acordo com o ângulo de iluminação ou observação; Osório & Ham, 20020) são frequentemente produzidas (Shawkey *et al.* 2003; Doucet *et al.* 2006).

Apesar a relação entre coloração e seleção sexual ser muito acreditada em alguns contextos, especialmente tratando-se de padrões que só emergem durante a estação reprodutiva, estamos ainda longe de poder concluir quais são as características honestas sinalizadas num contexto sexual, e a direção evolutiva dessas características. Por exemplo, tradicionalmente tem-se a idéia de que indivíduos mais parasitados têm menor qualidade e isso seria refletido morfologicamente em

aspectos tais como perda de peso, de vigor físico e uma plumagem menos colorida e brilhante (revisado em Møller *et al.*, 1999). No entanto, estudos recentes que relacionam cor e índice de parasitismo nas penas apontam resultados contrastantes (Doucet & Montgomerie 2003; Hill *et al.*, 2005; Costa & Macedo, 2005, Shawkey, 2007). Outro caso que pode ser exemplificado é a associação de dominância e condição corporal, que hora se mostra positiva (Andersson, 1994), hora se mostra negativa (Santos *et al.*, no prelo).

Assim, a maioria dos estudos assume medidas indiretas da qualidade dos indivíduos, tais como massa corporal e taxa de crescimento das penas, utilizando isso como indicativo da melhor genética daqueles indivíduos, bem como da sua maior capacidade de sobrevivência e reprodução. No entanto, algumas destas estimativas podem ser “mascaradas” quando não se conhece ao certo o que determina um indivíduo de maior qualidade. Torök e colaboradores (2003), por exemplo, encontraram em seu estudo diferença significativa na área da mancha branca de *Ficedula albicollis* entre adultos que morreram e os que sobreviveram após três anos de idade no cativeiro, mesmo sendo essa característica supostamente de baixo custo e muitas vezes desacreditada como indicadora de qualidade.

O objetivo deste estudo foi comparar medidas diretas da capacidade de sobrevivência e reprodução de machos de tiziu (*Volatinia jacarina*) através de aspectos da plumagem de indivíduos que morreram *versus* os que sobreviveram e dos que reproduziram *versus* os que não reproduziram estando em condições ambientais semelhantes. Ao invés de tentar julgar quais os indivíduos que teriam maior capacidade de passar seus genes adiante baseando-se em características morfológicas, este estudo usou indivíduos que demonstraram durante o experimento ter maior capacidade reprodutiva ou de sobrevivência e os comparou aos demais. Assim, sendo a plumagem nupcial um aspecto custoso desenvolvido apenas pelos machos desta espécie, o esperado seria que os indivíduos que sobreviveram e que reproduziram apresentassem características da plumagem significativamente mais brilhantes e chamativas dos indivíduos que morreram e não reproduziram, além de melhor em índice de massa corporal.

Além disso, foi realizado um pequeno estudo exploratório sobre cuidado parental no cativo com esta mesma espécie, comparando-se, inclusive, as características do macho reprodutor com os demais que não reproduziram.

METODOLOGIA

Sujeitos:

O tiziu é um pequeno passeriforme granívoro neotropical. É encontrado em territórios que vão do México até a Argentina e do Chile ao Brasil, aparecendo em grande abundância neste último (Sick, 1997). Apresentam dimorfismo sexual durante a estação reprodutiva, onde os machos adquirem uma plumagem iridescente preto-azulado, e as fêmeas permanecem amarronzadas. Além disso, apresentam manchas brancas sub-axilares as quais ficam bastante contrastantes com o fundo preto da plumagem nupcial além de bem destacadas durante o display sexual dos machos (Sick, 1997). Trata-se de uma espécie que, apesar de socialmente monogâmica, apresenta alta taxa de cópula extra-par (Carvalho *et al.*, 2006), e já foram encontradas relações da plumagem nupcial dos machos com a taxa de crescimento das penas (Doucet, 200a2), parasitismo (Costa & Macedo, 2005), índice de massa corporal (Maia, 2008) e dominância (Lacava, comunic. pessoal). Quanto à mancha branca, a relação encontrada até o presente momento foi apenas entre brilho e uma estimativa transversal da idade dos indivíduos (indivíduos diferentes na mesma época), relação esta que não se manteve realizando-se uma estimativa longitudinal da idade (mesmos indivíduos em diferentes épocas; Maia, 2008).

Condições experimentais:

Entre janeiro e março de 2007 foram capturados 70 tizius no Campus da Universidade de Brasília (15° 46'S; 47° 52'O) utilizando-se redes de neblina. Os indivíduos capturados foram alocados em gaiolas (0.55m x 0.30m x 0.38m) ou viveiros (2.6m x 1.5m x 2 m) no interior de um aviário externo (50m x 50m x 3m), onde estavam sujeitos às condições ambientais locais. Todos

foram isolados visualmente e submetidos às mesmas condições de alimentação, água e tratamento contra parasitas. No período dos dados utilizados nesse trabalho, 10 indivíduos morreram e 23 sobreviveram, estando todos sujeitos às mesmas condições ambientais e de tratamento. Apesar de não se poder fazer uma estimativa precisa da idade dos indivíduos, todos tinham um mínimo de 31.62% de plumagem negra no início do trabalho, indicando que seriam ao menos jovens com um ano completo de vida.

Sobre reprodução, os dados utilizados foram obtidos a partir de um conjunto de indivíduos que estavam pareados (apenas um macho e uma fêmea nas gaiolas), onde 4 dos machos reproduziram e 5 não. Adicionalmente, em um dos viveiros onde estava sendo mantido um grupo de indivíduos (3 machos e 3 fêmeas), um dos casais que se formou no grupo construiu ninhos e os ovos eclodiram. Como o espaço era relativamente pequeno e os indivíduos podiam ser facilmente identificados por anilhas coloridas, o fato tornou-se bastante propício para uma análise exploratória sobre seleção sexual e aspectos reprodutivos nesta espécie, tendo em vista que, neste caso, não parecia haver dúvidas em relação ao sucesso reprodutivo dos indivíduos. No total, foram construídos seqüencialmente por este mesmo casal (casal principal) quatro ninhos, cada um com dois ovos, onde ambos eclodiram em todas as vezes. Mais um filhote nasceu de um ovo posto por uma outra fêmea com este mesmo macho, no entanto, nenhum dos filhotes sobreviveu. Os dados aqui foram dos dois primeiros ninhos construídos pelo casal principal.

Coleta de dados e espectrofotometria:

Para todos os indivíduos analisados foram coletadas as medidas do índice de massa corporal calculado como a massa corporal dividida pelo comprimento do tarso (IMC; Costa & Macedo 2005, Aguilar *et al.*, 2008); porcentagem de plumagem preto-azulada (PP); área relativa da mancha branca em relação à área total da asa (AMB); e coletadas de 3 a 6 penas coberteiras preto-azuladas do dorso e 3 a 6 penas brancas da mancha sub-axilar para análise das suas propriedades de reflectância. As penas foram mantidas em papel laminado, protegidas da luz e

umidade até a análise das suas propriedades de reflectância, as quais foram feitas com um espectrofotômetro Ocean Optics USB4000 e uma fonte de luz xenônio pulsante PX-2 (Ocean Optics, Dunedin, Flórida), cujo espectro de iluminação fornecido é de 200 – 750nm. Todas as medidas de espectrofotometria foram feitas utilizando-se o programa SpectraSuite (Ocean Optics, Dunedin, Flórida) padronizando-se os parâmetros de captura de espectros em 20 milissegundos de tempo de integração; média de 50 leituras individuais e correção de *boxcar* de 30.

Os valores de massa foram obtidos através de um dinamômetro de mola Pesola® (precisão 0.1g) e as medidas de tarso com o auxílio de um paquímetro digital (precisão 0.01mm). A porcentagem de plumagem preta foi feita por estimativa visual baseando-se na proporção de plumagem preta que ocupava um pequeno disco transparente e subdividido em vários pontos, quando este era colocado em três diferentes partes do corpo dos animais (cabeça, peito e dorso). As áreas relativas das manchas brancas foram estimadas utilizando-se o programa ImageJ (versão 1.38, Rasband, W.S, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) através de desenhos das asas e suas respectivas manchas feitos em transparência, os quais foram posteriormente digitalizados.

Características da coloração:

A partir das medidas da coloração das penas pelo espectrofotômetro, foram obtidos cinco parâmetros para as penas pretas e dois para as penas brancas, os quais acredita-se serem os principais responsáveis pelas propriedades de cor (Montgomerie, 2006; Doucet *et al.*, 2006; Dias, 2006). Para as penas preto-azuladas, foram obtidos os valores de matiz (λ_{max} ; o comprimento de onda de maior reflectância); brilho médio (B_{med}); intensidade (I); contraste (C) e croma ultravioleta (R_{uv}). Para as penas brancas, apenas as medidas de brilho médio (MB_{Bmed}) e croma ultra violeta (MB_{Ruv}) foram obtidas.

Com o objetivo de diminuir a quantidade de parâmetros a serem estimados, foram realizadas duas análises de componentes principais (PCA, *principal components analysis*) com as

cinco variáveis relacionadas às propriedades espectrais da coloração preto-azulada, uma para os dados referentes à mortalidade dos indivíduos, e outra para os dados referentes à reprodução. Em cada um dos casos as variáveis foram resumidas satisfatoriamente em dois componentes principais ($PC1_m$; $PC2_m$ para os dados de mortalidade e $PC1_r$; $PC2_r$ para os dados de reprodução), que juntos, corresponderam a 92.1 e 95.4%, respectivamente, do total da variação explicada. Em ambos os casos os valores de PC1 estão relacionados especialmente com aspectos da intensidade da coloração (B_{med} , I e C) enquanto os de PC2 estão mais relacionados a aspectos das propriedades colorimétricas (λ_{max} e R_{uv} ; Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Coeficientes para os dois componentes principais obtidos através de uma análise de componentes principais utilizando-se as cinco variáveis relativas às propriedade espectrais da plumagem nupcial do tiziu. Dados referente ao indivíduos que entraram na análise de mortalidade.

Variável	$PC1_m$	$PC2_m$
B_{med}	0.50	-0.29
I	0.50	0.62
C	0.50	-0.30
λ_{max}	0.35	-0.28
R_{uv}	0.36	-0.62
Variação cumulativa explicada	0.73	0.92

Tabela 2. Coeficientes para os dois componentes principais obtidos através de uma análise de componentes principais utilizando-se as cinco variáveis relativas às propriedade espectrais da plumagem nupcial do tiziu. Dados referentes aos indivíduos que entraram nas análises de reprodução.

Variável	PC1 _r	PC2 _r
B _{med}	0.53	-0.19
I	0.53	-0.24
C	0.49	-0.33
λ _{max}	0.34	0.59
R _{uv}	0.28	-0.67
Variação cumulativa explicada	0.64	0.95

Análises estatísticas:

Para todas as variáveis foi verificada a normalidade por meio de análise visual e por teste de Shapiro Wilk. Todos os testes foram bicaudais e a hipótese nula foi rejeitada quando $P < 0.05$. Todas as análises foram realizadas no software estatístico R (versão 2.8.1, R Development Core Team 2008).

Para a comparação entre os tratamentos em cada caso (indivíduos que morreram *versus* indivíduos que sobreviveram, e indivíduos que reproduziram *versus* indivíduos que não reproduziram) foi utilizada uma análise de variância multivariada (MANOVA) onde morrer ou sobreviver e reproduzir ou não reproduzir foram as variáveis independentes categóricas e as variáveis dependentes foram os valores referentes aos aspectos de condição corporal e parâmetros ornamentais: ICM, PP, AMB, PC1, PC2, MB_{Bmed} e MB_{Ruv}.

Para a comparação referente à mortalidade dos indivíduos, os dados de índice de massa corporal e ornamentais utilizados são referentes ao mês de agosto, independentemente da data de morte dos indivíduos, pois todos os indivíduos estavam vivos nesse momento e buscando-se, assim, evitar a inserção do fator tempo na variação. Para a comparação referente à reprodução dos indivíduos, os dados utilizados foram referente ao mês de fevereiro, que foi quando os indivíduos começaram a reproduzir.

Além das duas MANOVAs utilizadas, foi realizado, ainda, um teste *t* para comparar o índice de massa corporal das fêmeas que puseram ovos em relação às que não puseram. Os dados aqui também são referentes ao mês de fevereiro.

Dados descritivos:

Os dados descritivos referem-se ao acompanhamento do cuidado parental de duas ninhadas de um mesmo casal no viveiro utilizando-se três métodos de amostragem (focal, varredura e todas as ocorrências) com observações feitas sempre com duração de 1h30min em diferentes turnos. Optou-se por utilizar os três métodos acima citados, por achar que, em conjunto, eles podem cobrir mais “brechas metodológicas” deixadas.

O método focal foi utilizado para que pudesse ser observado quais comportamentos ocorreriam no ninho, bem como quem os realizaria, indicando assim os provedores de cuidados com os filhotes, assim como possíveis tentativas de infanticídio, caso ocorresse. O método de varredura foi utilizado com o objetivo de quantificar objetivamente quais os indivíduos que se aproximavam mais do ninho, e quão próximos eles costumavam chegar, já que, observações piloto indicaram que com raras exceções indivíduos diferentes dos supostos pais chegavam ao ninho. E o método de todas as ocorrências, utilizado para quantificar os eventos de agressão envolvendo os “pais”, teve o objetivo principal de buscar pistas que indicassem se, de fato os indivíduos que reproduziram eram os mais dominantes.

Utilizou-se aqui a definição de cuidado parental adotada por Trivers (1972) como sendo *qualquer* investimento por parte dos pais na sua prole que aumente a sua chance de sobrevivência e reduza a capacidade dos pais em investir em uma nova ninhada.

Assim, o objeto focal, aqui, foram os ninhos com os filhotes, onde eram anotados os indivíduos que estavam no ninho e o comportamento, bem como sua duração. A varredura era realizada a cada cinco minutos identificando a distância aproximada de cada um dos seis indivíduos do viveiro em relação ao ninhos. Foram criadas quatro categorias de acordo com a

distância em relação ao ninho para facilitar o enquadramento dos indivíduos bem como a interpretação dos resultados: (1) 0, (2) > 0 até 0.5m, (3) > 0.5m até 1m, (4) > 1m. Utilizando-se o método de amostragem todas as ocorrências, foram registradas todos os eventos de agressão observados durante o mesmo período de observação focal, sempre que estes envolvessem os supostos pais. Os indivíduos envolvidos eram identificados e classificados como “agressores” ou “agredidos”.

Cada indivíduo foi identificado por anilhas coloridas estando as fêmeas com anilhas azul (♀A), vermelha (♀Vm) e amarela (♀Am) e os machos com anilhas roxa (♂R), verde (♂Vd) e preta (♂P). Como o cuidado parental ficou totalmente à cargo de dois dos indivíduos acima citados (♀A e ♂R), partiu-se do pressuposto que estes eram os prováveis pais dos filhotes nascidos.

Ao final, foram comparadas as características de plumagem e de padrão corporal do suposto pai, em relação aos demais. Aqui, novamente ao invés da utilização de todas as variáveis de cor da plumagem estrutural preto-azulada, foi realizado um PCA para resumir as variáveis a serem trabalhadas. Os dois componentes principais (PC1_d e PC2_d) juntos explicam cerca de 95.3% do total da variação, e cada um dos componentes pode ser interpretado da mesma forma que os anteriores (Tabela 3).

Tabela 3. Coeficientes para os dois componentes principais obtidos através de uma análise de componentes principais utilizando-se as cinco variáveis relativas às propriedades espectrais da plumagem nupcial do tiziu. Dados analisados em conjunto referente a 12 coletas de plumagem realizadas mensalmente ao longo de um ano de cada um dos três machos que estavam no grupo de seis indivíduos onde as observações descritivas foram realizadas.

Variável	PC1 _d	PC2 _d
B _{med}	0.58	-0.01

I	0.58	0.05
C	0.56	0.13
λ_{\max}	0.11	-0.69
Ruv	-0.02	0.71
Total da variação explicada (%)	0.58	0.95

RESULTADOS

Levando em conta todas as características simultaneamente, as análises não apontaram diferenças significativas entre os indivíduos, seja em relação à mortalidade (MANOVA: $F_{1,31} = 0.37$, $p = 0.39$) ou em relação à reprodução (MANOVA: $F_{1,7} = 0.86$, $p = 0.672$). A comparação entre as fêmeas também não apontou diferença significativa de peso entre as que reproduziram e as que não reproduziram ($t_7 = -1.62$, $p = 0.15$).

Na comparação de valores médios dos parâmetros examinados no estudo, os indivíduos que sobreviveram à época de alta mortalidade quando comparados com os indivíduos que morreram (Tabela 4), apresentaram médias mais elevadas de índice de massa corporal e de PC1 (ou seja, indivíduos mais brilhantes), além de menores valores de porcentagem de plumagem preta, de PC2 (indivíduos mais azulados) e de brilho da mancha branca. A média dos valores da área relativa e do croma ultravioleta da mancha branca foram praticamente os mesmos. Comparando-se os indivíduos em relação à reprodução, os machos que reproduziram obtiveram valores médios de porcentagem de plumagem preta, área relativa da mancha branca, PC2 e brilho da mancha branca maiores que os machos que não reproduziram. Os últimos, por outro lado, apresentaram os maiores valores médios de índice de massa corporal, PC1 e croma ultravioleta. Além disso, o IMC das fêmeas que reproduziram foi, em média, maior que o das fêmeas que não reproduziram.

Tabela 4. Média e desvio padrão do índice de massa corporal (IMC), porcentagem de plumagem preta (PP), área relativa da mancha branca (AMB), os dois componentes principais (PC1 e PC2), brilho e croma ultravioleta da mancha branca (MB_{Bmed} , MB_{Ruv}) dos indivíduos que morreram ou sobreviveram nos primeiros meses de experimento, e dos que reproduziram ou não. Neste último caso, também a média e o desvio padrão do índice de massa corporal das fêmeas que reproduziram ou não (IMC_{femeas}).

Variável	Morreu		Reproduziu	
	Sim (n = 10)	Não (n = 23)	Sim (n = 4)	Não (n = 5)
IMC (g/mm)	0.47 ± 0.06	0.51 ± 0.04	0.52 ± 0.03	0.54 ± 0.05
PP (%)	78.59 ± 15.38	67.31 ± 21.82	90.76 ± 9.07	87.94 ± 7.64
AMB	0.23 ± 0.09	0.24 ± 0.08	0.24 ± 0.07	0.23 ± 0.06
PC1	-0.31 ± 1.56	0.13 ± 2.06	-0.84 ± 1.96	0.67 ± 1.50
PC2	0.28 ± 1.12	-0.12 ± 0.90	0.63 ± 1.16	-0.51 ± 1.18
MB_{Bmed} (%)	0.67 ± 0.15	0.63 ± 0.16	0.74 ± 0.09	0.73 ± 0.07
MB_{Ruv} (%)	0.23 ± 0.02	0.24 ± 0.02	0.22 ± 4x10 ⁻³	0.23 ± 0.01
IMC_{femeas}	-	-	0.65 ± 0.02	0.61 ± 0.04

Dados descritivos:

Os dados relativos aos indivíduos observados quanto ao cuidado parental referem-se a um grupo com seis indivíduos e foram coletados em setes dias, abrangendo-se apenas o período após a eclosão dos ovos, e totalizando 15 horas de observação, 185 varreduras e 541 eventos de agressão contabilizados.

Durante as 15h de observação do ninho, a fêmea A esteve no ninho durante 11h 27min e 9s (aproximadamente 78,88% do tempo) e o macho R esteve presente 54min (5,96% do tempo), sendo que o ninho permaneceu vazio por 2h 56min e 43s (19,51% do tempo). Apenas durante 1min 19s (1,14%) do tempo houve algum adulto diferente dos supostos pais próximo ao ninho. Ambos (A e R) proveram algum tipo de cuidado parental, no caso da fêmea, especialmente, aquecendo e alimentando os filhotes, e no caso do macho, especialmente, alimento-os e agredindo os demais indivíduos.

No caso dos registros por varredura em relação à distância de todos os indivíduos do ninho, reforçando o exposto acima, a fêmea A foi registrada muito mais vezes próxima ao ninho do que o macho R, e os demais indivíduos dificilmente conseguiam se aproximar muito do ninho sem serem afugentados (Figura 1).

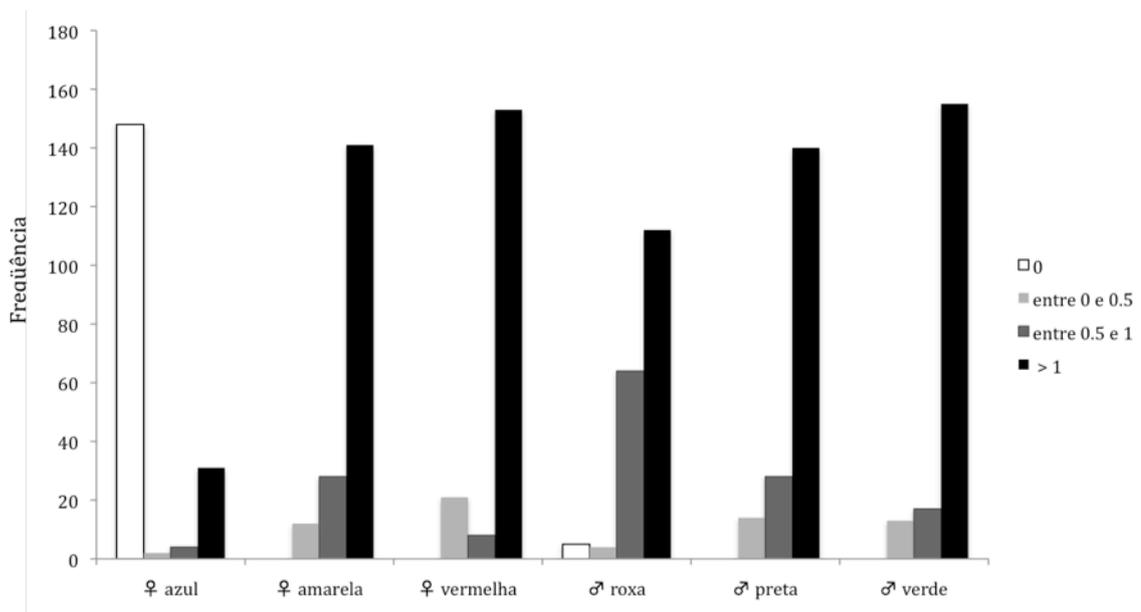


Figura 1. Frequência que cada um dos seis indivíduos em um grupo de tizius foi contabilizado em cada um das quatro categorias de distância em relação ao ninho (N = 185 varreduras). Na tabela, os indivíduos A e R são respectivamente ♀ azul e ♂ roxa.

Do total de 539 agressões contabilizadas, 511 envolveram um dos supostos pais dos filhotes no ninho. O macho R foi o agressor 427 vezes e foi agredido apenas 3 vezes, indicando ser ele o macho dominante dentre os três machos do grupo uma vez por cada fêmea do grupo. Já a fêmea A foi a agressora 81 vezes e foi agredida apenas uma vez pelo macho R. Do total de agressões pelos dois principais agressores, a maioria (78.16%) foi direcionada para indivíduos do mesmo sexo sugerindo uma possível hierarquia intra-sexual. Do restante das agressões observadas, a principal agressora foi a fêmea Vm (61.29% da vezes) e o principal agredido foi o macho P (45.16%).

Em relação aos aspectos morfológicos e de plumagem o macho R apresentou o menor índice de massa corporal e maior valor de PC1_d. Apresentou, ainda, valores intermediários de porcentagem de plumagem preta, área relativa da mancha branca e PC2_d, além de valores muito próximos dos demais de comprimento do tarso, brilho e croma ultravioleta da mancha branca (Tabela 6).

Tabela 6. Média e desvio padrão do comprimento do tarso (CT), índice de massa corporal (IMC), porcentagem de plumagem preta (PP), área relativa da mancha branca (AMB), os dois componentes principais (PC1_d e PC2_d), brilho e croma ultravioleta da mancha branca (MB_{Bmed}, MB_{Ruv}) dos indivíduos machos de tizius que estavam em um grupo de seis indivíduos. Dados referentes a 12 coletas de cada um dos três machos do grupo.

Variável	♂ Roxo	♂ Verde	♂ Preto
CT (mm)	18.41 ± 0.33	18.53 ± 0.60	18.98 ± 0.55
IMC (g/mm)	0.50 ± 0.04	0.54 ± 0.02	0.50 ± 0.02

PP (%)	66.95 ± 25.49	65.42 ± 24.16	77.83 ± 20.70
AMB	0.31 ± 0.02	0.32 ± 0.017	0.25 ± 0.01
PC1 _d	0.91 ± 2.16	-0.96 ± 1.07	-0.03 ± 1.20
PC2 _d	-0.23 ± 0.72	0.79 ± 1.77	-0.49 ± 1.19
MB _{Bmed} (%)	0.70 ± 0.10	0.70 ± 0.08	0.71 ± 0.10
MB _{Ruv} (%)	0.22 ± 0.01	0.23 ± 0.01	0.23 ± 0.01

Em relação às fêmeas, os dados coletados foram referentes apenas ao mês de fevereiro. Neste mês, a fêmea Am apresentou maior ICM (0.65g/mm), seguida da fêmea A (0.61g/mm) e por último a fêmea Vm (0.57 g/mm).

DISCUSSÃO

Apesar de algumas tendências encontradas, ao contrário do que era esperado, nenhuma das características de plumagem e nem mesmo o índice de massa corporal diferiram entre os indivíduos que morreram ou sobreviveram e entre indivíduos que reproduziram ou não. Alguns estudos apontam para a associação positiva entre aspectos da qualidade corporal e características relacionadas ao brilho e saturação da plumagem (Doucet, 2002; McGraw, 2002). É plausível que este mesmo padrão não tenha sido encontrado para os tizius no presente estudo devido à fartura de alimento, o qual deixou de ser um fator limitante e, desta forma, outros elementos que não envolvessem diretamente quão bem nutridos os indivíduos estão ganhariam destaque na influência sobre a coloração.

Outras possibilidades plausíveis existem. Uma possível explicação para os resultados, e mais óbvia, é que a causa da alta mortalidade de indivíduos em um período restrito, tal como

ocorreu, permaneceu desconhecida, e é possível que tal mortalidade não tenha relação direta com a qualidade intrínseca dos indivíduos, mas sim com algum outro fator, tal como a posição dos indivíduos no aviário. Outra possibilidade é que as características da plumagem estrutural iridescente dos tizius estejam associadas mais fortemente com características do meio externo. Apesar dos indivíduos estarem submetidos a condições físicas semelhantes, eles estavam em grupos sociais diferentes, devido a um outro experimento concomitante que estava sendo realizado (Capítulo 1). Assim, pode ser que o efeito do grupo onde os indivíduos estavam inseridos tenha “camuflado” uma possível diferença entre os indivíduos que morreram ou não, considerando que a maioria dos indivíduos que morreram estavam no grupo dos casais (Capítulo 1).

Além disso, segundo Dale (2006) toda a variabilidade é originada basicamente de duas fontes: genética e ambiental. A variabilidade ambiental origina-se através de uma interação de vários parâmetros ambientais tais como ambiente social, parasitas, qualidade territorial, idade, estação, nutrição e a penetração dos genes codificado por sinais fenotípicos. A relação entre qualidade individual e características da plumagem nupcial nesta espécie já foi sugerida por alguns estudos anteriores (Doucet, 2002; Maia, 2008), assim, é possível que a estruturação do experimento apenas não tenha sido capaz de captar tal relação. Algumas características passíveis de imprimir variabilidade individual foram medidas ou controladas neste estudo enquanto outras não, tais como idade, a penetração dos genes e o próprio ambiente social, gerando possíveis interações e influências ambientais sobre os indivíduos que não foram, aqui, passíveis de quantificação. (James Dale, Bird Coloration, 2006)

Em relação à reprodução, vale à pena destacar que a forma como o estudo foi conduzido não permitiu a escolha de machos por parte das fêmeas. Cada par de tizius estava separado em uma gaiola sem permitir o acesso a outros indivíduos e isolados visualmente dos demais. Mesmo que as fêmeas não tivessem a oportunidade de escolher entre os machos que julgassem melhores, elas poderiam aceitar ou não o seu par de acordo com a atratividade destes e, além disso, os indivíduos que foram capazes de reproduzir teriam um diferencial em termos de condição corporal

e qualidade individual. No entanto, devido à falta de competição, de oportunidade de escolha e sabendo que o custo de reprodução para machos é baixo (Bateman, 1948), é possível que o parâmetro reprodutivo, na forma como foi aqui medido, não seja um bom indicador da qualidade de indivíduos deste sexo. Alternativamente, o tamanho amostral reduzido pode ter resultado em um baixo poder nos testes estatísticos. Outra possibilidade é de que a vida em cativeiro, de baixo custo para os indivíduos, especialmente as fêmeas, tenha erradicado qualquer possível diferença morfológica entre indivíduos que reproduziram e aqueles que não o fizeram. Finalmente, é possível que nessa espécie exista também escolha do par exercida pelo macho, uma vez que esse apresenta investimento paternal. Assim, talvez a falta de reprodução de outros casais tenha ocorrido devido a uma rejeição de um membro do par pelo membro do sexo oposto. Nesse caso, a avaliação da qualidade individual dos membros do par não é adequada, pois o casal torna-se a unidade mais relevante para análises.

Existe uma quantidade consideravelmente menor de estudos de seleção sexual focando-se em fêmeas, particularmente em aves, onde normalmente os machos são muito mais chamativos. Alguns estudos já encontraram relações entre dominância, cuidado maternal, sucesso reprodutivo e coloração (ver Amudsend e Pärn, 2006), no entanto, considerando a plumagem parda e discreta das fêmeas de tiziu, esta não parece ser uma característica relevante nesta espécie, apesar de até o presente momento não ter sido investigada. Além disso, lembrando-se que não houve diferença significativa entre índice de massa corporal entre as fêmeas que reproduziram e as que não reproduziram, o que poderia, portanto, indicar uma fêmea mais atrativa e de maior qualidade? Owens e colaboradores (1994) em um estudo com *Charadrius morinellus* chamam a atenção para a importância do tamanho corporal em determinadas espécies, especialmente as que apresentam conflitos físicos entre fêmeas, como parece ser o caso do tiziu (dados descritivos). Apesar de neste desenho experimental não ter havido possibilidade das fêmeas entrarem em conflito direto entre si, no viveiro observado para coleta dos dados descritivos a principal fêmea reprodutora (A), era, de fato, maior que as outras duas (tarso de A: 19,7 cm; tarso das outras duas: 18,3 e 18,4 cm). No da

reprodução dos indivíduos que estavam pareados, outros fatores podem ter tido alguma influência, tais como aspectos relacionados a compatibilidade genética entre os indivíduos (Milinski, 2007).

Ao contrário de algumas espécies (Torök *et al.*, 2003; Doucet *et al.*, 2005), até o momento não foi encontrada relação entre características da mancha branca do tiziu e aspectos da qualidade de indivíduos ou influência do meio ambiente (Costa & Macedo, 2005; Aguilar *et al.*, 2008; Maia, 2008; Capítulo 1). A real função da mancha branca no contexto sexual permanece, então, um mistério. No entanto, um aspecto que ainda não foi explorado e que poderia ajudar a clarear esta questão é a utilização de modelos mais reais no estudo sobre esta característica. A expressão de um sinal é apenas o primeiro passo da comunicação visual (Montgomerie, 2006), e não necessariamente ele é percebido da mesma forma que é expresso. Muitos estudos apontam para a importância em se considerar aspectos tais como o fundo contra o qual ornamentos coloridos irão contrastar, o grau de iridescência, quando for o caso, bem como aspectos fisiológicos do receptor (Gomez & Théry, 2007; Loyau *et al.*, 2007).

Além disso, outras possibilidades podem ser levantadas e devem ser investigadas, tal como o tempo em que esta mancha permanece exposta durante os saltos do display sexual (Jeffrey Poddos, comunicação pessoal), ou possibilidade de estar funcionando como um amplificador, não revelando qualidade por si só, mas diminuindo o percentual de erro pelos receptores ao avaliarem outras características que sinalizam qualidade (Dale, 2006), como por exemplo a capacidade dos indivíduos de permanecer no ar durante o salto (Carvalho *et al.*, 2006).

Outro aspecto que vale a pena destacar é que, apesar dos estudos já citados onde foi encontrada relação entre qualidade individual e aspectos da plumagem nupcial nesta espécie, até agora nenhum estudo mostrou efetivamente a escolha de parceiros por parte das fêmeas baseada em aspectos relacionados à plumagem dos machos (Carvalho *et al.*, 2006; Dias, submetido). Assim, é possível que, na natureza, as fêmeas estejam fazendo suas escolhas baseadas em outra característica que não a cor em si, mas, por exemplo, na forma como ela é mostrada durante o salto. Um estudo realizado com *Euplectes ardens*, por exemplo, mostrou que nesta espécie fêmeas

ignoram totalmente o chamativo colar vermelho que os machos têm em volta do pescoço e escolhem preferencialmente territórios de machos com as caudas maiores (Pryke *et al.* 2001; Griffith & Pryke, 2006), indicando que nem todas as características que podem funcionar como sinalizadores honestos, são, de fato, escolhidas pelas fêmeas.

Em relação à descrição da reprodução em si, e apesar da impossibilidade de realização de testes estatísticos devido a quantidade reduzida de indivíduos e ausência de réplicas, os dados são bastante informativos, pois representam uma realidade mais próxima da reprodução natural, onde existe a possibilidade de escolha de parceiro. Na população de seis indivíduos onde ocorreu reprodução, o macho reprodutor mostrou-se dominante aos demais, iniciando uma grande quantidade de agressões e sendo vítima pouquíssimas vezes. Os dados apontam, no entanto, que o macho “escolhido” (supostamente o de melhor qualidade entre os três) não era o indivíduo maior (comprimento do tarso), com maior IMC ou o mais preto (PP e PC2_d). Este achado corrobora dois outros estudos com tizius: no primeiro, foi encontrado que os indivíduos mais agressivos eram os mais leves (Santos *et al.*, no prelo); no segundo estudo foi encontrada uma correlação negativa entre porcentagem de plumagem preta e dominância (Lacava, comunic. pessoal). Por outro lado o indivíduo R apresentou valor médio de PC1_d consideravelmente maior que os demais e, portanto, uma plumagem mais brilhante e intensa, embora com menor cobertura negra.

Mais estudos precisam ser feitos – e associações entre os que já existem – para esclarecer a relação exata entre plumagem estrutural do tiziu e a qualidade individual. Estudos anteriores sugerem que na coloração estrutural, aspectos relacionados às propriedades colorimétricas, tais como matiz e saturação, parecem estar relacionados com determinados padrões nanométricos das estruturas espalhadoras de luz, enquanto os aspectos relacionados à intensidade da cor parecem estar relacionados especialmente com características mais “macro”, como a quantidade de bárbulas das penas (Shawkey *et al.*, 2003; Doucet *et al.*, 2006). Neste sentido no presente estudo, os dados sugerem um provável destaque dos aspectos relacionados à intensidade e brilho da cor em relação a aspectos como o matiz e o croma ultravioleta, o que seria, portanto,

um indicativo de que a principal influência do meio externo na coloração estrutural nesta e em outras espécies que demonstraram variação especialmente no brilho, está não na organização das nanoestruturas em si, mas na quantidade e aparência macro das bárbulas. Além disso, os resultados do presente estudo, em conjunto, apontam para uma relação muito mais complexa entre o que se suporia ser ‘qualidade’, aspectos ornamentais do macho, e escolha por parte de fêmeas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, M. (1994). *Sexual Selection*. Princeton, New Jersey: Princeton University Press.
- Amundsend, T. & Pärn, H. (2006). Female coloration: review of functional and nonfunctional hypotheses. Em: *Bird Coloration, Vol. II: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 280 – 348. Cambridge: Harverd University Press.
- Bateman, A. J. (1948). Intrasexual selection in *Drosophila*. *Heredity*: 2: 349 – 368.
- Bennet, A. T. D.; Cuthill, I. C.; Partridge, J. C. & Lunau, K. (1997). Ultraviolet plumage colores predict mate preferences in starlings. *Proc. Natl. Acad. Sci. Usa*. 94: 8618 – 8621.
- Carvalho, C.B.; Macedo, R. H. & Graves, J. (2006). Breeding strategies of a socially monogamous neotropical passerine: extra-pair fertilizations, behavior and morphology. *The Condor*. 108: 579 – 590.
- Castro, J. M.; Nolan, Jr. V. & Ketterson, E. D. (2001). Steriod hormones and immune function: experimental studies in wild and captive dark-eyed juncos (*Junco hyemalis*). *The American Naturalist*. 108: 408 – 420.
- Costa, F. J. V. & Macedo, R. H. (2005). Coccidian oocyst parasitism in the blue-black grassquit: influence on secondary sex ornaments and body condition. *Animal Behaviour*. 70: 1401 – 1409.
- Cuthill, I. C. (2006). Color perception. Em: *Bird Coloration, Vol. I: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 3 – 40. Cambridge: Harverd University Press.
- Darwin, C. (1871). *The descent of man, and selection in relation to sex*. London: John Murray.

- Dale, J. (2006). Intraspecific variation in coloration. Em: *Bird Coloration, Vol. II: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 36 – 86. Cambridge: Harvard University Press.
- Delhey, K.; Peters, A. & Kempenaers, B. (2007). Cosmetic coloration in birds: occurrence, function and evolution. *American Naturalist*. S169: 146 – 158.
- Dias, R. I. (2006). The role of ultraviolet wavelength in sexual selection. *Revista Brasileira de Ornitologia*. 14: 191 – 195.
- Doucet, S. M. (2002). Structural plumage coloration, male body size, and condition in the blue-black grassquit. *Condor*. 104: 30 – 38.
- Doucet, S. M.; Mennill, D. J.; Montgomerie, R.; Boag, P. T. & Ratcliffe, L. M. (2005). Achromatic plumage reflectance predicts reproductive success in male black-capped chickadees. *Behavioral Ecology*. 16: 218 – 222.
- Doucet, S. M.; Shawkey, M. D.; Hill, G. E. & Montgomerie, R. (2006). Iridescent plumage in satin bowerbirds: structure, mechanisms and nanostructural predictors of individual variation in colour. *Journal of Experimental Biology*. 209: 380 – 390.
- Fox, D. L. (1976). *Animal biochromes and structural colors*. Berkeley: University of California Press.
- Gomez, D. & Théry, M. (2007). Simultaneous crypsis and conspicuousness in color patterns: comparative analysis of a neotropical rainforest bird community. *The American Naturalist*. S169: 42 – 61.
- Griffith, S. C. & Pryke, S. R. (2006). Benefits of assessing color displays. Em: *Bird Coloration, Vol. II: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 233 – 279. Cambridge: Harvard University Press.
- Hill, G. E.; Doucet, S. M. & Buchholz, R. (2005). The effect of coccidial infection on iridescent plumage coloration in wild turkeys. *Animal Behaviour*. 69: 387 – 394.

- Hill, G. E. (2006a). Environmental Regulation of Ornamental Coloration. Em: *Bird Coloration, Vol. I: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 295 – 355. Cambridge: Harvard University Press.
- Hill, G. E. (2006b). Female mate choice for ornamental coloration. Em: *Bird Coloration, Vol. II: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 137 – 200. Cambridge: Harvard University Press.
- Jacobs, G. H.; Bowmaker, J. K. & Mollon, J. D. (1981). Behavioral and microspectrophotometric measurements of color vision in monkeys. *Nature*. 292: 541 – 543.
- Kelber, A.; Vorobyev, M. & Osório, D. (2003). Animal colour vision – behavioural tests and physiological concepts. *Biol Rev*. 78: 81 – 118.
- Keyser, A. J. & Hill, G. E. (1999). Condition-dependent variation in the blue-ultraviolet coloration of a structurally based plumage ornament. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*. 266: 771 – 777.
- Kimball, R. T. (2006). Hormonal control of coloration. Em: *Bird Coloration Vol. I: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 431 – 468. Cambridge: Harvard University Press.
- Loyau, A.; Gomez, D.; Moureau, B.; Théry, M.; Hart, N. S.; Jalme, M. S.; Bennett, A. T. D. & Sorci, G. (2007). Iridescent structurally based coloration of eyespots correlates with mating success in the peacock. *Behavioral Ecology*. 18: 1123 – 1131.
- Maia, R. (2008). Coloração estrutural iridescente do tiziu (*Volatinia jacarina*, Aves: Emberizidae): mecanismos de produção, variação e função. *Dissertação de mestrado apresentada no Programa de Pós-Graduação em Ecologia*. Universidade de Brasília, Brasília – DF.
- Milinski, M. (2006). The major histocompatibility complex, sexual selection, and mate choice. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst*. 37: 159 – 186.

- McGraw, K. J.; Mackillop, E. A.; Dale, J. & Hauber, M. E. (2002). Different colors reveal different information: how nutritional stress affects the expression of melanin- and structurally based ornamental plumage. *Journal of Experimental Biology*. 205: 3747 – 3755.
- Montgomerie, R. (2006). Analyzing Colors. In: *Bird Coloration, Vol. I: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 90 – 147. Cambridge: Harvard University Press.
- Møller, A. P.; Christie, P. & Lux, E. (1999). Parasitism, host immune function, and sexual selection. *Quarterly Review of Biology*. 74: 3 – 20.
- Osorio, D. & Ham, A. D. (2002). Spectral reflectance and directional properties of structural coloration in bird plumage. *Journal of Experimental Biology*. 205: 2017 – 2027.
- Osorio, D. & Vorobyev, A. (2008). A review of the evolution of animal colour vision and visual communication signals. *Vision Research*. 48: 2042 – 2051.
- Owens, I. P. F.; Burke, T. & Thompson, D. B. A. (1994). Extraordinary sex roles in the Eurasian dotterel: female mating arenas, female-female competition, and female mate choice. *American Naturalist*. 144: 76 – 100.
- Peters, A.; Astheimer, L. B.; Boland, C. R. J. & Cockburn, A. (2000). Testosterone is involved in acquisition and maintenance of sexually selected male plumage in superb fairy-wrens, *Malurus cyaneus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 47: 438 – 445.
- Peters, A.; Delhey, K.; Johnsen, A. & Kempenaers, B. (2007). The condition-dependent development of carotenoid-based and structural plumage in nestling blue tits: male and female differ. *The American Naturalist*. 169: 122 – 136.
- Prum, R. O. & Torres, R. H. (2003). A Fourier tool for the analysis of coherent light scattering by bio-optical nanostructures. *Integrative and Comparative Biology*. 43: 591 – 602.
- Prum, R. O. (2006). Anatomy, physics, and evolution of avian structural colors. In: *Bird Coloration, Vol. I: Mechanisms and Measurements* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 295 – 355. Cambridge: Harvard University Press.

- R Development Core Team. 2007 *R: A Language for Data Analysis and Graphics*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. (disponível em <http://cran.r-project.org/>).
- Santos, E. S. A.; Maia, R. & Macedo, R. H. (no prelo). Condition dependent resource-value affects male-male competition in the blue-black grassquit. *Behavioral Ecology*.
- Senar, J. C. (2006). Color displays as intrasexual signals of aggression and dominance. In: *Bird Coloration, Vol. II: Function and Evolution* (ed. G. E. Hill and K. J. McGraw), pp. 295 – 355. Cambridge: Harvard University Press.
- Shawkey, M. D.; Estes, A. M.; Siefferman, L. & Hill, G. E. (2003). Nanostructure predicts intraspecific variation in ultraviolet-blue plumage colour. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*. 270: 1471 – 2954.
- Shawkey, M. D.; Pillai, S. R.; Hill, G. E.; Siefferman, L. M. & Roberts, S. R. (2007). Bactéria as an agent for change in structural color: correlational and experimental evidence. *The American Naturalist*. S169: 112 - 121
- Sick, H. (1997). *Ornitologia Brasileira*. Rio de Janeiro: Editora Nova Fronteira.
- Thompson, E.; Palácios, A. & Varela, F. J. (1992). Ways of coloring: comparative color vision as a case study for cognitive science. *Behav. Brain Sci*. 15: 1 – 74.
- Török, J.; Hegyi, G.; Garamszegi & L. Z. (2003). Depigmented wing patch size is a condition-dependent indicator of viability in male collared flycatchers. *Behavioral Ecology*. 14: 382 – 388.
- Trivers, R. L. (1972). Parental investment and sexual selection. Em *Sexual selection and the descent of man, 1871-1971*. (ed. B. Campbell) pp: 136 – 179. Chicago, Aldine.
- Zahavi, A. (1975). Mate selection – a selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology*. 53: 205 – 214.

